Aus dem Physiologischen Institut der Universität Tübingen
Lehrstuhl II : Professor Dr. med. R. Jacob

AUSWIRKUNGEN EINES AKUTEN CALCIUM–ENTZUGS AUF DIE DIASTOLISCHE SPANNUNG DES ISOLIERTEN VENTRIKELMYOKARDS BEI NORMOTENSIVEN UND HYPERTENSIVEN RATTEN.

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Theoretische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
Tübingen

vorgelegt von

THOMAS ALFONS KARL HOLUBARSCH
aus Tübingen

1981

Aus dem Physiologischen Institut der Universität Tübingen
Lehrstuhl II : Professor Dr. med. R. Jacob

AUSWIRKUNGEN EINES AKUTEN CALCIUM–ENTZUGS AUF DIE DIASTOLISCHE SPANNUNG DES ISOLIERTEN VENTRIKELMYOKARDS BEI NORMOTENSIVEN UND HYPERTENSIVEN RATTEN.

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Theoretische Medizin)
der Eberhard–Karls–Universität
Tübingen

vorgelegt von

THOMAS ALFONS KARL HOLUBARSCH
aus Tübingen

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan:	Professor Dr. med. H. Haselmann
1. Berichterstatter:	Professor Dr. med. R. Jacob
2. Berichterstatter:	Professor Dr. med. M. Siess

---

gedruckt bei Fa. H.- J. Köhler, Reprografischer Betrieb , Tübingen

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. METHODEN	5
1. Versuchstiere	5
2. Narkose und Präparation	5
3. Versuchsanordnung und verwendete Geräte	6
3.1. Muskelbad, Perfusions- und Beobachtungssystem	6
3.2. Kraftmessung	8
3.3. Elektrische Reizung	9
4. Perfusionslösungen	9
4.1. Normaltyrodelösung	9
4.2. Calciumfreie Tyrodelösung	9
4.3. Nifedipin in Normaltyrodelösung und in calciumfreier Tyrodelösung	9
4.4. EGTA in Normaltyrodelösung und in calciumfreier Tyrodelösung	10
	10
4.5. Mannitollösung	10
5. Anlegen einer Nierenarterienstenose	10
6. Allgemeiner Versuchsablauf	11
7. Auswertung der Versuche	11
8. Auswahl der Myokardtrabekel und Präparatequalität	12
9. Eichung	14
10. Fehlerbetrachtung	14
III. ERGEBNISSE	15
1. Ca^{2+}-Entzug	15
2. Der Einfluß von Nifedipin	20
3. Der Einfluß von Mannitollösung	25
4. Der Einfluß von EGTA	27

Seite

5. Der Einfluß von 1,5 mM Citrat in calciumfreier Tyrodelösung 31
6. Der Einfluß verschiedener Pharmaka auf die diastolische und systolische Spannung des hypertrophierten Myokards 31
   6a. Einfluß der Pharmaka Nifedipin, Mannitol und EGTA auf die systolische Spannungsentwicklung 37
   6b. Einfluß von Nifedipin auf die diastolische Spannung 37
   6c. Einfluß von Mannitollösung auf die diastolische Spannung 37
   6d. Der Einfluß von EGTA auf die diastolische Spannung 40
7. Einfluß von calciumfreier Tyrodelösung auf den Verlauf von Ruhe-Dehnungskurven 46

IV. DISKUSSION 49

1. Diastolische Ruhespannung bei Kontrollmyokard 49
2. Die diastolische Ruhespannung bei hypertrophiertem Myokard 55

V. ZUSAMMENFASSUNG 61

VI. LITERATURVERZEICHNIS 63

I. EINLEITUNG

Neben den anatomischen Parametern wie Größe, Form und Wanddicke des Herzens sind für die enddiastolische Druck-Volumen-Beziehung auch die diastolisch-elastischen Eigenschaften des Myokardgewebes selbst bestimmend, welche durch die sog. Ruhedehnungskurve des isolierten Myokards beschrieben werden. Veränderungen im Bereich dieser diastolisch-elastischen Eigenschaften können nicht nur die diastolischen Druckwerte beeinflussen, sondern implizieren auch Veränderungen der Anpassungsfähigkeit des Herzens an unterschiedliche Belastungen im Sinne des FRANK-STARLING-Mechanismus.

GASKELL (1880), FRANK (1895), HEIDENHAIN (1882) und BOTAZZI (1897) untersuchten bereits im vergangenen Jahrhundert die Frage, wodurch die Unterschiede der kardialen Ruhespannung beim erschlafften Herzen bedingt seien. Prinzipiell könnte die Ruhespannung des Herzmuskels durch folgende Strukturen bzw. Mechanismen getragen werden: Einerseits könnte das extrazelluläre Bindegewebe sowie das Sarkolemm des Herzmuskels Träger der Ruhespannung sein. Andererseits sind von HANSON und HUXLEY (1955) Strukturen in den kontraktilen Proteinen beschrieben worden, denen diese Funktion ebenfalls zukommen könnte. Außerdem wird von einigen Autoren postuliert, daß die Ruhespannung durch Interaktionen von Aktin und Myosin auch während der Diastole aufrechterhalten werde - möglicherweise im Sinne von WEZLER's (1962) "aktivem diastolischen Tonus". Die Erklärungsmöglichkeiten reichen also von einer ausschließlich durch aktive Vorgänge bedingten bis zu einer lediglich auf passiven Elementen beruhenden diastolischen Spannung. Sofern diese diastolische Spannung - wenn auch nur teilweise - durch aktive Ankoppelungsvorgänge zwischen den kontraktilen Proteinen aufrecht-

erhalten würde, müßte dieser aktive Anteil der diastolischen Spannung mit geeigneten Methoden reversibel reduzierbar bzw. völlig aufhebbar sein.

In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb versucht, durch Ca^{2+}-Ionen-Entzug, Calcium-Antagonisten und durch kardioplegische Lösungen die Interaktionen der kontraktilen Elemente zu hemmen und dadurch möglicherweise die diastolische Spannung zu reduzieren.

Eine chronisch vermehrte Druck- oder Volumenbelastung - wie sie z.B. bei Herzklappenfehlern, bei Ventrikelseptumdefekten oder bei Hypertonie vorliegt - beantwortet das Herz mit einer Hypertrophie des Myokards, d.h. einer Vergrößerung der Herzmuskelzellen. Diese Herzhypertrophie ist gewöhnlich zunächst kompensiert, bevor es zu einem Versagen der Ventrikelfunktion kommt. Das Phänomen der Herzhypertrophie stellt nicht nur einen myokardialen Wachstumsprozeß dar, der lediglich eine rein quantitative Zunahme der Herzmuskelmasse bedeuten würde. Vielmehr birgt der Prozeß der Herzhypertrophie auch eine Veränderung der dem Myokard selbst innewohnenden Eigenschaften in sich. Als Beispiel für die Druckhypertrophie seien die Abnahme der maximalen Verkürzungsgeschwindigkeit und die veränderte Spannungs-Anstiegsgeschwindigkeit erwähnt (SPANN et al., 1967; KAUFMANN et al., 1971; ALPERT, 1974; JACOB et al., 1976 und 1977; KISSLING und WENDT-GALLITELLI, 1977).

Neben diesen, die systolische Komponente des Herzmuskels betreffenden Wertgrößen können bei der Hypertrophie auch die myokardialen diastolisch-elastischen Eigenschaften verändert sein.

Bei Untersuchungen am hypertrophierten Ganzherz ergibt sich gegenüber dem Kontrollherz eine zwangsläufig veränderte enddiastolische Druck-Volumenbeziehung wegen der

unterschiedlichen Wanddicke und der unterschiedlichen Herzgeometrie. Aussagen über hypertrophiebedingte Veränderungen der myokardialen Eigenschaften in Diastole sind deshalb nur bedingt und mit erheblichen rechnerischen Schwierigkeiten möglich. In der Regel werden Umrechnungen von Druck und Volumen des Gesamtventrikels in Längen-Spannungsbeziehungen unter der vereinfachenden Annahme durchgeführt, daß das Herz Kugel- oder Ellipsenform einnimmt (SANDLER und DODGE, 1963; MIRSKY und PARMLEY, 1973; HEPP et al., 1974; HOLUBARSCH und JACOB, 1978). Aufgrund dieser Schwierigkeit wurden in der vorliegenden Arbeit Herz-Muskelstreifenpräparate verwendet, bei denen Umrechnungen und Annahmen von geometrischen Formen entfallen. Zur Untersuchung der druckinduzierten Hypertrophie benutzen andere Autoren das Goldblatt II-Modell (Nierenarterienstenose ohne kontralaterale Nephrektomie). Bei dieser Art der Hypertrophie ist bekannt, daß die diastolisch-elastischen Eigenschaften verändert sind (KÄMMEREIT, 1976; KISSLING et al., 1977; HOLUBARSCH, 1980).

Entsprechende Veränderungen der myokardialen diastolischen Eigenschaften sind jedoch auch bei anderen Modellen der experimentellen Herzhypertrophie gefunden worden: Aortenstenose (BING et al., 1971; KÄMMEREIT und JACOB, 1979), Pulmonalarterienstenose (ALPERT et al., 1974).

Wie bereits erwähnt, könnte eine verminderte myokardiale Dehnbarkeit auf einer Zunahme des Bindegewebes (BUCCINO et al., 1969), einer Zunahme der kontraktilen Proteine pro Querschnitt (MEERSON, 1962) und damit einer Vermehrung der parallelelastisch wirksamen S-Filamente (HUXLEY und HANSON, 1954) oder auf einer calciumbedingten Ankoppelung oder Mehrankoppelung der Querbrücken (MEERSON, 1976) beruhen.

In dieser Arbeit wird durch eine Senkung der extrazellulären Ca^{2+}-Ionen-Konzentration die Frage angegangen, inwieweit eine verminderte Dehnbarkeit des hypertrophierten Myokards durch eine aktive, calciumionenbedingte Komponente der kontraktilen Proteine die diastolische Spannungslage bestimmt oder mitbestimmt.

II. METHODEN

1. Versuchstiere

Die Untersuchungen wurden an 65 Wistar-Ratten männlichen Geschlechts durchgeführt. Ihr Körpergewicht betrug im Mittel 250 $\pm$ 52 g. Im einzelnen liegen den Messungen 47 Herzmuskelpräparate von normalen Ratten zugrunde. Außerdem wurden Untersuchungen an 18 Präparaten von hypertrophierten Rattenherzen durchgeführt.

2. Narkose und Präparation

Die Versuchstiere wurden durch intraperitoneale Injektion einer 50 %igen Urethanlösung in einer Dosis von 2,5 ml/kg anästhesiert.

Der Thorax wurde durch einen parasternalen Längsschnitt eröffnet und das Herz nach Abtrennen der großen Gefäße entnommen. In einer von Carbogen (95 % O_2 und 5 % CO_2) durchperlten Tyrodelösung wurde das in den Vorhöfen und Ventrikeln befindliche Blut durch die autonome Pumptätigkeit des Herzens ausgewaschen. In einer von frisch carbogenisierter Tyrodelösung durchflossenen Präparierschale wurde nach Entfernen des Perikards und der Vorhöfe die Herzspitze mit Hilfe einer Nadel fixiert. Nun folgte von der Aorta her die Eröffnung des linken Ventrikels. Die zum Vorschein kommenden Trabekel wurden untereinem Stereomikroskop bei 10-facher Vergrößerung mit einer feinen Präparierschere von Sehnenfäden befreit, und das basisnahe Ende sowie - wenn erforderlich - die Längsseite des Trabekels von der Wand des linken Ventrikels abgetrennt. Nach Anlegen von feinen Seidenfadenligaturen an beiden Trabekelenden wurde auch das apexnahe Ende des Myokardtrabekels vom linken Ventrikel getrennt. Proximal der beiden Liga-

turen wurde je ein feinstes Häkchen eingestochen und zusätzlich in die Ligatur eingebunden. Dieses Präparat wurde nun von der Präparierschale in das Muskelbad gebracht (Abb. 1).

Während der Präparation wurde darauf geachtet, daß der Trabekel von mechanischen Irritationen wie Dehnung oder Berührung weitgehend verschont blieb. - Die Präparationszeit wurde möglichst kurz gehalten, sie betrug zwischen 5 und 14 Minuten.

3. Versuchsanordnung und verwendete Geräte

3.1. Muskelbad, Perfusions- und Beobachtungssystem:

Das in Plexiglas gearbeitete Muskelbad bestand aus einer 4 cm langen Rinne (Querschnitt = 0,5 cm^2), an deren einem Ende der Zufluß aus einem Tyrodevorratsgefäß angebracht war. Der Abfluß erfolgte auf der anderen Seite (siehe Abb. 1). Das Tyrodevorratsgefäß stand 25 cm erhöht in einem Wasserbad, von wo aus ein kurzes Schlauchsystem die Tyrodelösung zum Muskelbad leitete; bei einer Durchflußgeschwindigkeit von 8 - 12 ml/Min. betrug die Temperatur im Muskelbad unter Versuchsbedingungen konstant 32°C.

Das Muskelbad war mit einem Mikromanipulator justierbar, so daß die Lage des horizontal eingespannten Trabekels innerhalb des Muskelbades exakt eingestellt werden konnte. Der Myokardtrabekel wurde mit den in ihn eingestochenen feinen Häkchen auf der einen Seite an einem starr befestigten Haken und auf der anderen Seite an einem mechanoelektrischen Wandler eingehängt (siehe Abb. 1). Dieser mechanoelektrische Wandler konnte durch einen Mikromanipulator in der Längsrichtung des Myokardtrabekels bewegt werden, so daß hiermit die Vordehnung des Streifenpräparates variiert werden konnte.

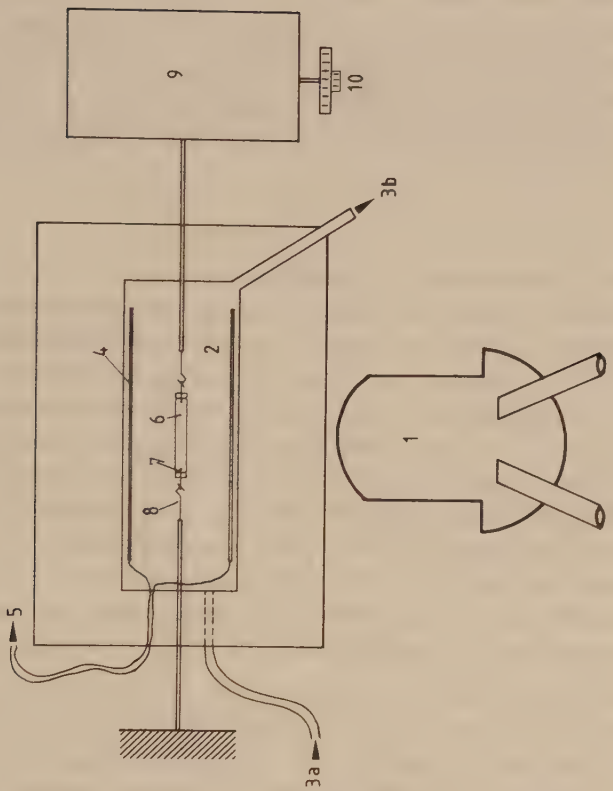

Abb. 1: Darstellung des Versuchsaufbaus (Aufsicht).

1 Mikroskop mit Lichtquelle
2 Muskelbad
3 Zufluß der Tyrodelösung (a) und Abfluß (b)
4 Reizelektroden
5 Kabel zum Reizgerät
6 Myokardtrabekel
7 Ligatur mit Häkchen
8 Starr befestigter Haken
9 Mechanoelektrischer Kraftwandler
10 Mikrometerschraube

Durch das Plexiglas war der Inhalt der Muskelkammer von unten ungehindert zu beobachten; deshalb wurde der Beobachtungsstrahlengang mit Hilfe eines Prismas nach vorn umgelenkt, so daß der Myokardtrabekel durch das Mikroskop ohne Verzerrung zu beobachten und zu vermessen war.

3.2. Kraftmessung

Die isometrische Kraftmessung kann auf die Messung einer proportionalen Wegänderung zurückgeführt werden, wobei darauf zu achten ist, daß diese Wegänderungen möglichst klein zu halten sind. Zur Kraftmessung wurde ein induktiver Wegaufnehmer der Firma HOTTINGER BALDWIN MESSTECHNIK benutzt, der über eine Wheatstone-Brücken-Schaltung an einen Trägerfrequenz-Verstärker (Fa. HOTTINGER/KWS II - 5,5 kHz) angeschlossen wurde. Die Dehnbarkeit der Meßeinrichtung wurde mittels einer starren Stahldrahtverbindung zwischen den beiden Befestigungspunkten des Trabekels bestimmt, und konnte wegen der vergleichsweise geringen Kräfte der Herzmuskelpräparate vernachlässigt werden.

Das Signal des induktiven Kraftaufnehmers wurde über eine Meßbrücke vom Typ HOTTINGER auf eine Schreibereinheit der Firma HELLIGE geleitet, wo die Spannungswerte in 2 unterschiedlichen Verstärkungen registriert wurden, um neben der systolischen Spannungsentwicklung auch die diastolischen Spannungsänderungen möglichst empfindlich messen zu können.

Zur Vermeidung von Erschütterungen wurden alle Meßgeräte auf einer schwingungsdämpfenden Platte gelagert.

3.3. Elektrische Reizung

Mit einem Stimulator I der Firma H. SACHS ELEKTRONIK erfolgte über 2 Platinelektroden (vgl. Abb. 1) die elektrische Reizung des Myokardtrabekels. Die Rechteckimpulse hatten eine Folgefrequenz von 0,2 Hz und eine Dauer von 3 msec. Die Reizstärke lag ca. 20 % über der Schwellenspannung.

4. Perfusionslösungen

4.1. Normaltyrodelösung:

Glucose	23,7 mM
$NaHCO_3$	20,0 mM
NaCl	130,5 mM
NaH_2PO_4	0,83 mM
KCl	4,9 mM
$CaCl_2$	2,16 mM

4.2. Calciumfreie Tyrodelösung

Um den osmotischen Druck bei der calciumfreien Lösung konstant zu halten, wurde die Konzentration von Glucose und NaCl erhöht:

Glucose	25,9 mM
NaCl	132,7 mM

4.3. Nifedipin in Normaltyrodelösung und in calciumfreier Tyrodelösung

Der Calciumantagonist Nifedipin (ADALAT^R, Fa. BAYER) wurde den unter 4.1. und 4.2. beschriebenen Tyrodelösungen in Konzentrationen von 0,1 bis 10 mg/l zugegeben. - Auf einen osmotischen Ausgleich durch Variation eines anderen Be-

standteiles der Tyrodelösung wurde verzichtet.

4.4. EGTA in Normaltyrodelösung und in calciumfreier Tyrodelösung

Der Chelatbildner EGTA [(Äthylenglykol-bis (2-aminoäthyl-äther) N,N'-tetraessigsäure)] (Fa. SERVA) wurde in Konzentrationen von 0,22 bis 10 mM in den unter 4.1. und 4.2. beschriebenen Tyrodelösungen verwendet. Auf eine osmotische Balance wurde verzichtet.

Zur Oxygenierung der Perfusionslösungen diente ein Carbogen-Gasgemisch (95 % O_2 und 5 % CO_2).

4.5. Mannitollösung

Diese kardioplegische Lösung (nach Bretschneider, 1978) enthielt weder Ca^{2+}-Ionen noch Glucose, Mannitol jedoch in hoher Konzentration.

KCl	10 mM
NaCl	15 mM
$MgCl_2$	2 mM
Mannitol	270 mM

5. Anlegen einer Nierenarterienstenose

An 18 jungen, männlichen Wistar-Ratten mit einem Körpergewicht von 120 - 130 g wurde künstlich eine arterielle Hypertonie erzeugt, die zu einer Linksherzhypertrophie führte. Hierzu wurde in Äthernarkose die linke Nierenarterie freigelegt und durch einen Silberdrahtklip, der eine lichte Weite von 0,2 mm hatte, stenosiert (Goldblatt, Typ II; KISSLING et al., 1977). Einige der Kontrolltiere wurden scheinoperiert. Alle Tiere hatten freien Zugang zum Standardfutter und zu Leitungswasser. Der systolische Blutdruck wurde bei allen Tieren dreimal plethysmographisch an der Schwanzarterie bestimmt. Die Herzstreifenpräparate

wurden in einem Stadium von 4 - 6 Wochen nach Stenosierung der linken Nierenarterie untersucht.

6. Allgemeiner Versuchsablauf

Nach Präparation des Myokardtrabekels und Befestigen am mechanoelektrischen Wandler wurde jeweils eine einstündige Anpassungsphase des Herzmuskelpräparates bei mittlerer Vordehnung eingehalten. Zunächst wurde l_{max} (Muskellänge, bei welcher maximale Spannungsentwicklung zu beobachten ist) bestimmt, dann wurden Steady-state-Bedingungen abgewartet. Anschließend wurden drei Dehnungs- und drei Entdehnungskurven registriert, wobei mittels der oben erwähnten Mikrometerschraube Dehnungsschritte von 0,1 mm in einem zeitlichen Abstand von 30 sec durchgeführt wurden. Der Durchmesser des jeweiligen Präparates und l_{max} wurden mit dem Stereomikroskop bestimmt. - Nun wurde eine Vordehnung gewählt, die zwischen 70 % und 100 % von l_{max} lag. Der Grad der Vordehnung ist bei den einzelnen Experimenten im Ergebnisteil angegeben. Erneut wurden Steady-state-Bedingungen abgewartet (30 - 80 Min.). Danach wurde für 10-30 Minuten auf eine der Test-Perfusionslösungen umgeschaltet. Die Konzentrationen der Calciumantagonisten wurden so gewählt, daß einerseits die systolische Kraftentwicklung schnell und möglichst vollständig abnahm, andererseits aber bei Auswaschung der Pharmaka die aktive Spannungsentwicklung reversibel war.

7. Auswertung der Versuche

Unter der Annahme, daß der Myokardtrabekel eine zylindrische Form besitzt, wurde aus dem Radius die Grundfläche nach der Formel $A = \pi \cdot r^2$ ermittelt. Bei einigen Trabekeln wurde nach Versuchsende das Gewicht bestimmt und

unter Annahme eines spezifischen Gewichtes von $\gamma = 1\ g/cm^3$ der Trabekelquerschnitt nach der Gleichung

$$A = \frac{\text{Gewicht}}{\gamma \cdot \text{Länge}}$$

errechnet. Diese beiden Methoden zur Querschnittsbestimmung erbrachten nahezu identische Ergebnisse.
Anhand der Gleichung

$$\text{Spannung} = \frac{\text{Kraft}}{\text{Querschnitt}}$$

wurden die Spannungswerte berechnet.

Die diastolischen Spannungsänderungen unter den Testlösungen wurden als Differenz zu der zuvor unter Normaltyrodelösung registrierten Kontrollspannung bestimmt.

8. Auswahl der Myokardtrabekel und Präparatequalität

Wegen der Gefährdung zentraler Bereiche der Präparate aufgrund einer insuffizienten Versorgung wurden Muskelstreifen, deren Durchmesser 1,0 mm überschritt, verworfen. Zur Beurteilung der Präparatequalität wurden Länge und Querschnitt sowie diastolische und systolische Spannung bei l_{max} gewählt: Die Mittelwerte sämtlicher Präparate, die dieser Arbeit zugrunde liegen, sind in Tab. 1 angegeben.

Die entsprechenden Werte von Herzmuskeltrabekeln aus hypertrophiertem Myokard finden sich in Tab. 5.

l_{max} [mm]	Trabekel-querschnitt bei l_{max} [mm²]	Diastolische Spannung bei l_{max} [10^{-2} N/mm²]	Systolische Spannung bei l_{max} [10^{-2} N/mm²]
4,9 ± 1,0	0,53 ± 0,26	0,753 ± 0,362	4,99 ± 2,35

Tab. 1: Mittelwerte und Standardabweichungen von Dimension sowie diastolischer und systolischer Spannung bei normalem Myokard (n = 47).

9. Eichung

Durch Belastung mit bekannten Präzisionsgewichten wurden Kraftaufnehmer, Verstärker und Schreibereinheit geeicht. Die Spannungswerte werden in der Einheit N/mm² angegeben.

10. Fehlerbetrachtung

Langfristig reagiert die verwendete Apparatur empfindlich auf Temperaturänderungen. Da in dieser Arbeit lediglich die Auswirkungen von akutem Ca^{2+}-Entzug untersucht werden sollen, sind die Fehler infolge Temperatureinflusses gering zu halten durch entsprechende Konstanz der Zimmertemperatur.

Unter Annahme einer Ableseungenauigkeit von 0,3 mm und eines durchschnittlichen Muskelquerschnittes von 0,5 mm² ergibt sich für die verschiedenen Verstärkerstufen, die zur Bestimmung der diastolischen Spannungswerte Verwendung fanden, ein Auswertefehler von $\pm$ 2,5 bis $\pm$ 10,0 x 10^{-5} N/mm².

III. ERGEBNISSE

1. Ca^{2+}-Entzug

An 14 Rattenmyokardtrabekeln wurden die Auswirkungen einer calciumfreien Perfusionslösung untersucht, und zwar in den Vordehnungsbereichen 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 95 % und 100 % von l_{max}.

A. Systole:
In calciumfreier Tyrodelösung sank die systolische Spannung innerhalb von 5 - 10 Minuten auf 10 - 40 % (Abb. 2 und Abb. 3) ab und behielt diesen Wert bei. Selbst nach 20 - 60 Minuten andauerndem Ca^{2+}-Entzug betrug die gemessene systolische Spannungsentwicklung noch 8 $\pm$ 10 % durchschnittlich. Lediglich in einzelnen Fällen wurde Asystolie beobachtet.

B. Diastole:
Die diastolische Spannung dagegen wurde bei allen Versuchen durch den Ca^{2+}-Entzug nur unwesentlich beeinflußt (Abb. 2 und Abb. 3); in 13 Einzeluntersuchungen wurde ein äußerst geringfügiges, außerhalb der Meßgenauigkeit liegendes Absinken, in 43 Untersuchungen ein Ansteigen und in 33 Untersuchungen keine Änderung der diastolischen Spannung registriert. Im Mittel ergab sich nach 10 Minuten eine Differenz zur diastolischen Ausgangsspannung von + 7,1 $\pm$ 16,2 $\cdot$ 10^{-5} N/mm² (n = 89).

Im Einzelnen wurden bei den verschiedenen Vordehnungsstufen die in Tab. 2 aufgeführten Veränderungen der diastolischen Spannung gemessen.

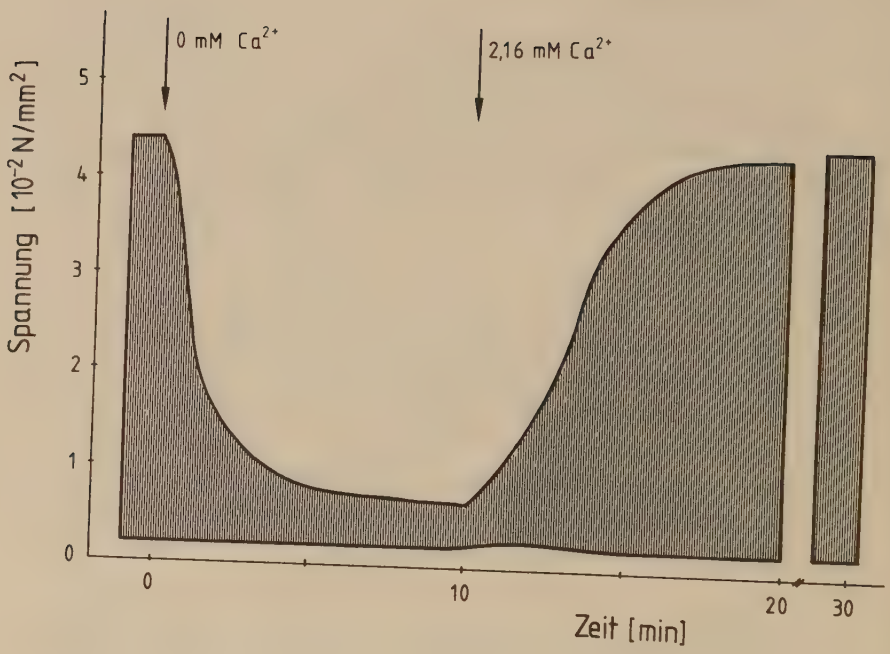

Abb. 2: Diastolischer und systolischer Spannungsverlauf bei Ca^{2+}-Entzug und bei Ca^{2+}-Wiederzufuhr (Vordehnung 95 % l_{max}).

Vordehnung	Diastolische Spannung $[10^{-5}$ N/mm$^2]$	Ansteigen	Absinken	keine Änderung	Gesamtzahl
70 % von l_{max}	+ 2,0 ± 5,0	2	2	2	6
75 % von l_{max}	0,0 ± 0,0			2	2
80 % von l_{max}	+ 2,2 ± 0,6	2			2
85 % von l_{max}	+0,02 ± 1,5	5	6	10	21
95 % von l_{max}	+ 5,8 ± 10,5	24	5	15	44
100 % von l_{max}	+22,0 ± 28,0	10		4	14
gesamt	+ 7,1 ± 16,2	43	13	33	89

Tab. 2: Diastolische Spannungsänderungen unter Ca^{2+}-Entzug bei verschiedenen Vordehnungsstufen an 14 Myokardtrabekeln.

Wurde die Normaltyrodelösung (2,16 mM Ca^{2+}) wieder zugeführt, so erreichte die systolische Spannung innerhalb von 5 Minuten 80 - 100 % ihres Kontrollwertes. Bei dieser Ca^{2+}-Wiederzufuhr wurden sehr unterschiedliche, kurzfristige Anstiege der diastolischen Spannung (Kontrakturen) registriert. Diese waren umso ausgeprägter, je näher die jeweilige Vordehnung des Präparates bei l_{max} lag. Im Mittel betrug der diastolische Spannungsanstieg nach 1 - 2 Minuten 56 $\pm$ 47 $\cdot$ 10^{-5} N/mm² (bei 95 % von l_{max} gemessen).

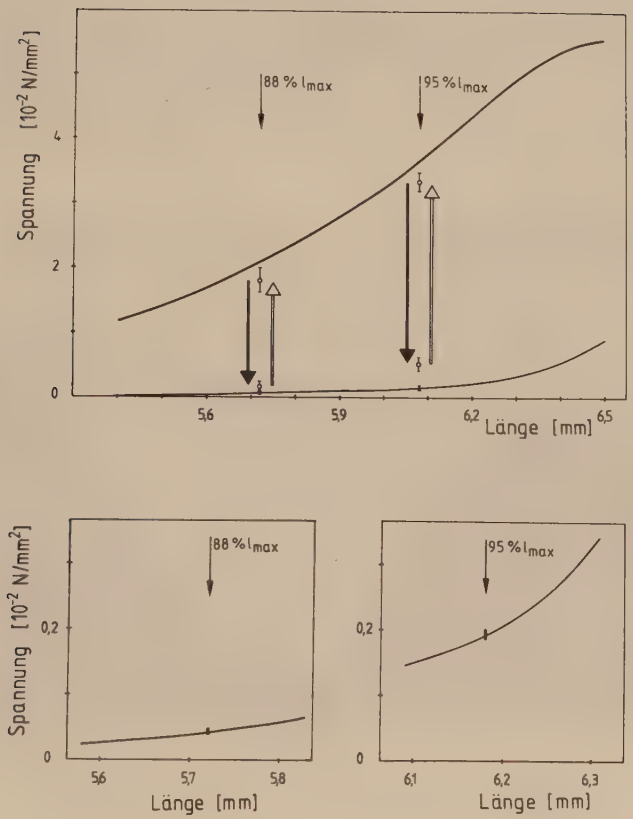

Abb. 3: Repräsentativer Versuch: 10-minütiger Ca^{2+}-Entzug. 4 Untersuchungen wurden bei der Vordehnung von 88 % l_{max} durchgeführt und 7 bei 95 % l_{max}. In der oberen Abbildung zeigen die dunklen Pfeile den systolischen Spannungsabfall bei Ca^{2+}-Entzug, die hellen Pfeile deuten den systolischen Spannungsanstieg bei Ca^{2+}-Wiederzufuhr an. Die diastolischen Spannungsänderungen unter Ca^{2+}-Entzug sind in den unteren Abbildungen zehnfach vergrößert dargestellt.

2. Der Einfluß von Nifedipin

Bei einer Vordehnung von 95 % l_{max} wurde an 9 Herzstreifenpräparaten der Einfluß von Nifedipin getestet; zusätzlich wurden einige Versuche bei 85 % von l_{max} durchgeführt.

A. Systole:
Nach Zugabe von Nifedipin erfolgte bei Anwesenheit von Ca^{2+}-Ionen (2,16 mM) eine Steigerung der systolischen Kraft um 10 - 30 % in den ersten 2 - 3 Minuten, in den folgenden 10 - 20 Minuten fiel diese jedoch auf 30 - 80 % des Ausgangswertes ab (s. Abb. 4B). - Bei Wiederzufuhr von Normaltyrode sank die systolische Kraft innerhalb von 2 Minuten nochmals um 10 - 20 % ab, um nach 5 - 10 Minuten wieder anzusteigen: Nach 20 - 30 Minuten stellte sich die neue systolische Maximalspannung bei 80 - 90 % der Ausgangsspannungwieder ein.

Wenn Nifedipin in einer calciumfreien Tyrodelösung zugeführt wurde, erfolgte eine wesentlich schnellere und stärkere Abnahme der systolischen Spannung: Die Kraftentwicklung betrug nach 10 Minuten noch 10 - 20 % (s. Abb. 4A). - Bei Wiederzufuhr von Normaltyrodelösung (2,16 mM Ca^{2+}) stieg die systolische Kraftentwicklung innerhalb von 10 - 20 Minuten auf 80 - 90 % ihres Ausgangswertes.

B. Diastole:
Die Veränderungen der diastolischen Spannung bei verschiedenen Nifedipin-Konzentrationen sind in Tab. 3 dargestellt (s. auch Abb. 4 und 5). Sämtliche Veränderungen sind nicht signifikant, so daß Nifedipin bei Kontrollmyokard in den getesteten Konzentrationen keinen Effekt auf die diastolische Spannung hat. - Bei Wiederzufuhr von Normaltyrodelösung wurde ein diastolischer Spannungsanstieg beobachtet, der nach 1 - 2 Minuten seinen Maximalwert von durchschnitt-

lich (40 ± 25) · 10^{-5} N/mm² erreichte, um nach 10 Minuten wieder auf denKontrollwert abzusinken.

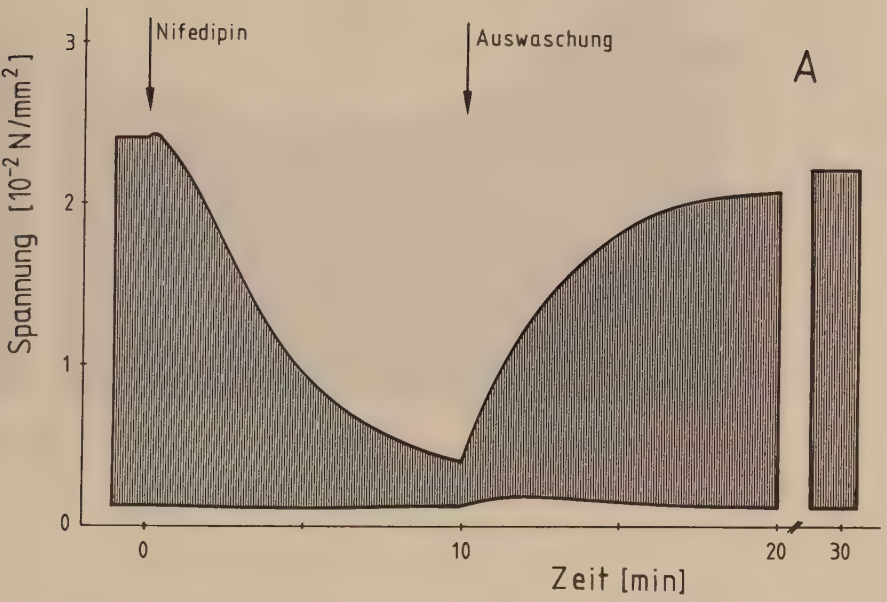

Abb. 4A: Repräsentativer Versuch: Diastolischer und systolischer Spannungsverlauf unter Nifedipin (0,2 mg/l) in calciumfreier Tyrodelösung. Die Vordehnung betrug 85 % l_{max}. Nach 10 Minuten wurden die Anfangsbedingungen wiederhergestellt.

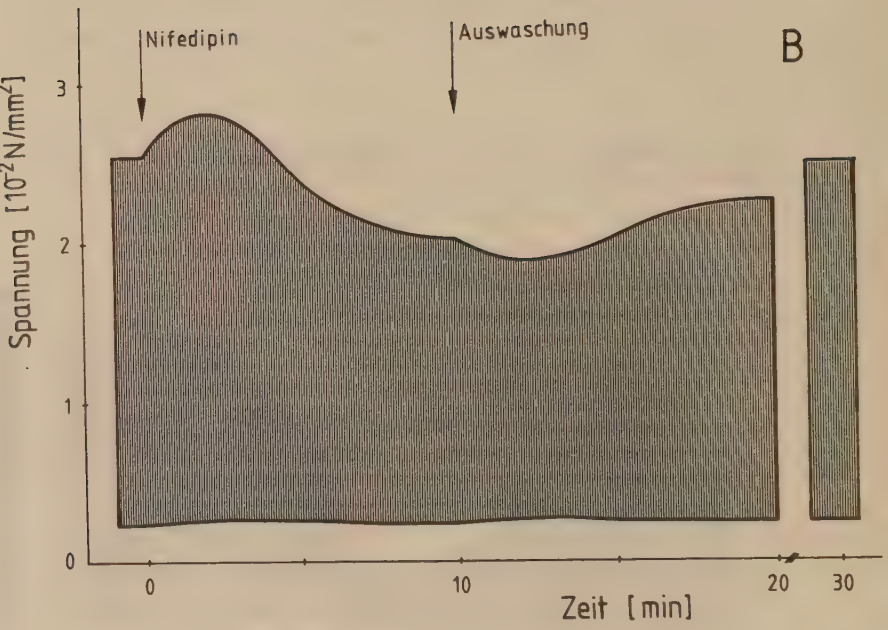

Abb. 4B: Repräsentativer Versuch: Diastolischer und systolischer Spannungsverlauf unter Nifedipin (O_2 2 mg/l) in Normaltyrodelösung (2,16 mM Ca^{2+}). Die Vordehnung betrug 85 % l_{max}. Nach 10 Minuten wurden die Anfangsbedingungen wiederhergestellt.

Nifedipin-konzentration [mg/l]	An-zahl n	Diastolische Spannungsänderung [10^{-5} N/mm²]
0,1	5	+ 3,8 ± 2,8
0,2	13	- 0,5 ± 12,0
2,0	4	+ 3,2 ± 10,4

Nifedipin-konzentration [mg/l]	An-zahl n	Diastolische Spannungsänderung [10^{-5} N/mm²]
0,1	5	+ 2,2 ± 7,3
0,5	11	+ 10,9 ± 20,1
10,0	4	+ 11,5 ± 3,1

Tab. 3: Diastolische Spannungsänderungen bei verschiedenen Nifedipin-Konzentrationen. Der obere Teil zeigt die Ergebnisse, wenn Nifedipin in Normaltyrodelösung zugeführt wurde, im unteren Teil wurde Nifedipin in calciumfreier Tyrodelösung angewandt.

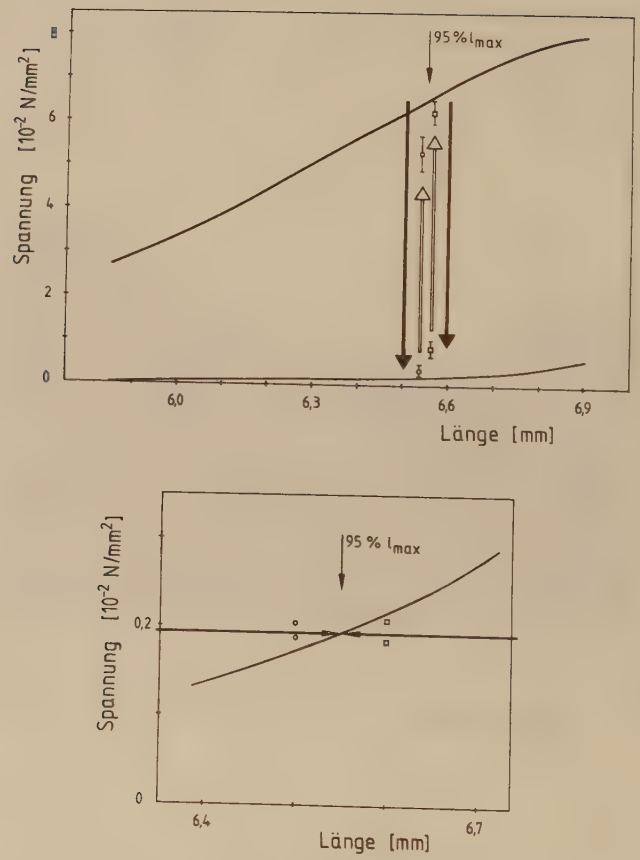

Abb. 5: Ein repräsentativer Versuch: Systolische und diastolische Spannungsänderungen unter Nifedipin (0,5 mg/l, 0 mM Ca^{2+}) und unter270 mM Mannitol (Vordehnung 95 % l_{max}). In der oberen Abb. zeigen die dunklen Pfeile die Abnahme der systolischen Spannungsentwicklung nach zehnminütiger Wirkung von Nifedipin (o) und Mannitol (□), die hellen Pfeile zeigen die systolische Spannungszunahme bei Wiederzufuhr von Normaltyrodelösung. - Die Änderung der diastolischen Spannung unter diesen Pharmaka ist in zehnfach vergrössertem Maßstab in der unteren Abb. dargestellt. Der Übersicht halber sind die Symbole (o und □) nach

links bzw. rechts verlagert, alle Untersuchungen wurden bei derselben Vordehnung vorgenommen. Der dicke waagrechte Balken stellt die diastolische Spannung unter Kontrollbedingungen dar.

3. Der Einfluß von calciumfreier Mannitollösung

6 Rattenmyokardtrabekel wurden hinsichtlich des Einflusses der kardioplegischen Lösung getestet; die Vordehnung betrug 95 % l_{max}.

A. Systole:
Unter der Einwirkung der kardioplegischen Lösung verminderte sich die systolische Spannungsentwicklung innerhalb von 15 Minuten durchschnittlich auf 14 $\pm$ 13 % (n = 9) der systolischen Ausgangsspannung, bei einigen Muskeln trat Asystolie auf. Bei Wiederzufuhr von Normaltyrode erreichte die systolische Spannung nach 30 Minuten 80 - 100 % des Kontrollwertes (Abb. 5 und Abb. 6).

B. Diastole:
Die diastolische Spannung stieg unter der kardioplegischen Lösung kurzfristig um $(55{,}1 \pm 84{,}8) \cdot 10^{-5}$ N/mm² (n = 9) an und fiel wieder auf ihren Ausgangswert ab (s. Abb. 6); nach 10 Minuten lag sie $(6{,}1 \pm 31{,}7) \cdot 10^{-5}$ N/mm² über der diastolischen Ausgangsspannung ($\hat{=}$ 3,8 $\pm$ 11,4 % der Kontrollspannung). Vgl. dazu Abb. 5 und Abb. 6. Eine längere Einwirkungszeit der kardioplegischen Lösung von 15 - 20 Minuten erbrachte keine anderen Befunde.

Bei Wiederzufuhr von Normaltyrode wurde ein diastolischer Spannungsanstieg von durchschnittlich $(56 \pm 69) \cdot 10^{-5}$ N/mm² (entsprechend 14,7 $\pm$ 12,1 % der diastolischen Ausgangsspannung) beobachtet, der innerhalb von 30 Minuten auf den Ausgangswert abfiel.

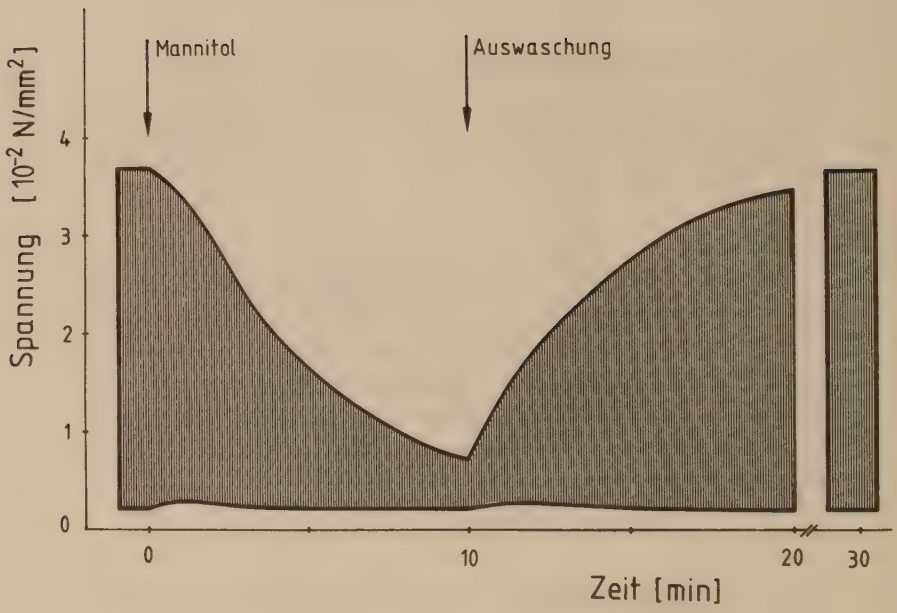

Abb. 6: Repräsentativer Versuch: Diastolischer und systolischer Spannungsverlauf unter Mannitoleinfluß und bei Wiederzufuhr von Normaltyrodelösung (Vordehnung 95 % l_{max}).

4. Der Einfluß von EGTA

10 Rattenmyokardtrabekel wurden mit Tyrodelösungen behandelt, die EGTA-Konzentrationen von 0,22 bis 4,3 mM enthielten. In 6 Versuchen wurde die übliche Ca^{2+}-Konzentration (2,16 mM) gewählt, und in 19 Versuchen wurden die Ca^{2+}-Ionen durch NaCl und Glucose ersetzt (osmotische Balance). Die Vordehnung betrug 85 % und 95 % von l_{max}.

A. Systole:
Abb. 7 zeigt einen repräsentativen Einzelversuch. Im Durchschnitt fiel bei n = 11 Einzelversuchen die systolische Spannungsentwicklung innerhalb von 2 - 4 Minuten auf 50 % ab und nach 4 - 7 Minuten bestand Asystolie. Die Versuchsbedingungen waren wie in Abb. 8 angegeben. - Unter Wiederzufuhr von Normaltyrodelösung zeigten die Präparate innerhalb von 30 - 80 Minuten einen Wiederanstieg der systolischen Spannung auf 50 - 90 % der Kontrollwerte (s. Abb. 7 und 8).

B. Diastole:
In der Regel bewirkte EGTA einen kurzfristigen Anstieg der diastolischen Spannung, der wohl - aufgrund der regelmäßig in diesem Zeitraum auftretenden Extrasystolen - als Kontraktionsrückstand zu sehen ist (s. Abb. 7). Die unter Asystolie gemessene diastolische Spannung - 10 Minuten nach EGTA-Zugabe ausgewertet - unterschied sich von den Kontrollwerten folgendermaßen: Bei 3 Untersuchungen wurde ein geringfügiger Anstieg, bei 5 Untersuchungen ein geringfügiges Absinken und bei weiteren 3 Untersuchungen keine Änderung der diastolischen Spannung gemessen. Es errechnete sich für den Mittelwert dieser Differenzen ein Wert von $(-3{,}6 \pm 22{,}3) \cdot 10^{-5}$ N/mm².

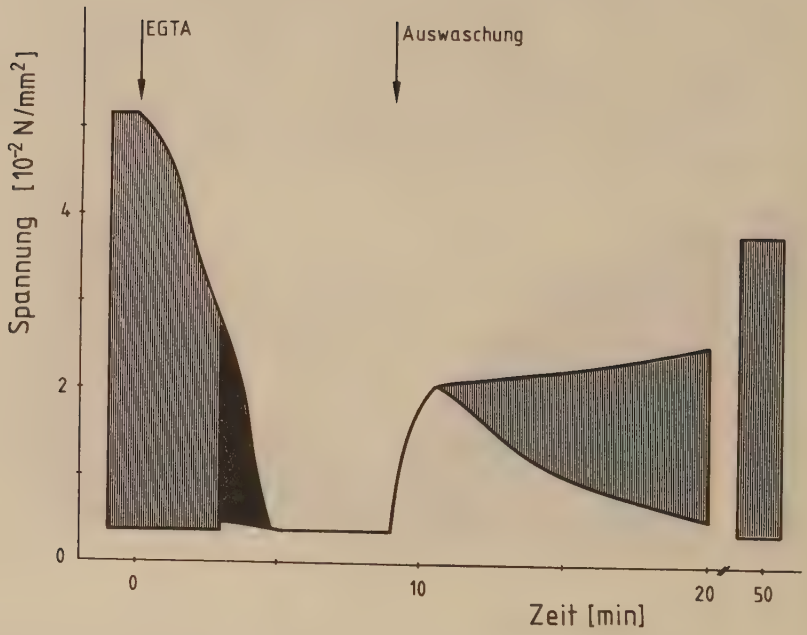

Abb. 7: Repräsentativer Versuch zur Darstellung des diastolischen und systolischen Spannungsverlaufes bei EGTA-Zufuhr (1,1 mM EGTA in calciumfreier Tyrodelösung). Vordehnung 95 % l_{max}. Die dunkel unterlegte Fläche entspricht den im Text erwähnten Extrasystolen.

Diese geringen Spannungsabweichungen sind statistisch nicht signifikant und liegen im Bereich der Meß- und Ableseungenauigkeit. - Bei Wiederzufuhr von Normaltyrodelösung (2,16 mM Ca^{2+}) wurde innerhalb von 30 Sekunden ein diastolischer Spannungsanstieg registriert, der nach 1 - 2 Minuten ein Maximum von $(+ 739 \pm 526) \cdot 10^{-5}$ N/mm² durchlief und nach etwa 40 - 70 Minuten wieder vollständig verschwunden war (s. Abb. 7).

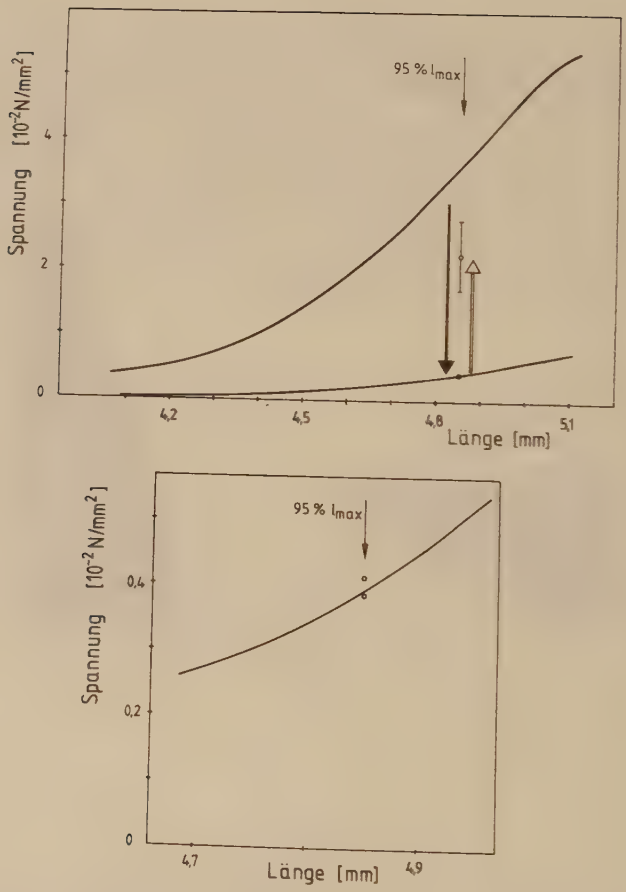

Abb. 8: 2 repräsentative Einzelversuche an einem Rattenmyokardtrabekel unter dem Einfluß von EGTA-Lösung (1,1 mM) bei einer Vordehnung von 95 % l_{max}. In der oberen Abb. zeigt der dunkle Pfeil die Abnahme der systolischen Spannungsentwicklung auf 0 nach einer Einwirkungsdauer der EGTA-Lösung von 10 Minuten; der helle Pfeil stellt den systolischen Spannungsanstieg nachWiederzufuhr der Normaltyrodelösung dar. - Die Spannungskoordinate wurde in der unteren Abb. auf das Zehnfache vergrößert, es sind die diastolischen Spannungsänderungen nach 10 Minuten andauerndem Einfluß der EGTA-Lösung abgebildet

5. Der Einfluß von 1,5 mM Citrat in calciumfreier Tyrodelösung

Bei 12 weiteren Präparaten wurde der Einfluß von 1,5 mM Citrat in calciumfreier Tyrodelösung über eine Einwirkungsdauer von 10, 20 und 40 Minuten untersucht. Eine starke Reduktion der systolischen Spannungsentwicklung wurde in allen Fällen beobachtet, während die diastolische Spannung unveränderlich blieb.

6. Der Einfluß verschiedener Pharmaka auf die diastolische und systolische Spannung des hypertrophierten Myokards

Von 18 Ratten, die nach operativer Stenosierung der linken Nierenarterie eine Hypertonie von RR 174 $\pm$ 13 mmHg entwickelten, wurden 4 - 6 Wochenpost operationem die Herzen untersucht. Zur Kontrolle dienten 14 Ratten gleichen Alters. Der Blutdruck der Kontrollratten betrug 111 $\pm$ 12 mmHg (s. Tab. 4 und Abb. 9). Um den Grad der Myokardhypertrophie beurteilen zu können, wurde jeweils das Naßgewicht des linken Ventrikels bestimmt. Aus Tab. 4 folgt, daß das absolute Gewicht der hypertrophierten Ventrikel um 30 % signifikant zunahm. Da die Körpergewichte von Kontrollen und Goldblattratten sich signifikant unterschieden, wurde der Quotient aus Ventrikelgewicht und Körpergewicht gebildet. Dieser Index für den Hypertrophiegrad zeigt eine relative Zunahme des Ventrikelgewichtes um 54 % ($p < 0{,}001$) an (vgl. Tab. 4 und Abb. 10).

Die Dimension und Qualität der Präparate von Goldblattratten sind im Vergleich zu den Kontrollratten in Tab. 5 dargestellt. Zwar liegt der Querschnitt der Goldblatt-

präparate durchschnittlich über dem der Kontrolltiere, dieser Unterschied ist jedoch nicht signifikant. Dennoch weisen diese Präparate durchschnittlich höhere systolische Spitzenspannungen auf. Wie zu erwarten, ist die diastolische Spannung der Goldblattpräparate signifikant höher. Nach Entdehnung auf 90 % l_{max} ist dieser Unterschied jedoch nicht mehr signifikant, im Gegenteil weisen die Goldblattpräparate bei dieser Vordehnung durchschnittlich etwas geringere diastolische Spannungen auf (s. Tab. 5).

	Körpergewicht [g]	Blutdruck [mmHg]	Herzgewicht [g]		li. Ventr. [g] / Körpergew. [g] · 10^3	re.Ventr.[g] / Körpergew.[g] · 10^3
			linker Ventrikel	rechter Ventrikel		
Hypertensive Tiere n = 18	240±39	174±13	1,0±0,28	0,23 ±0,13	4,23±0,14	1,01±0,06
Kontrollen n = 14	280±25	111±12	0,77±0,11	0,23±0,1	2,74±0,04	0,81±0,04
	p <0,01	p <0,001	p <0,01	n.s.	p <0,001	n.s.

Tab. 4: Vergleich von Körpergewichten, Blutdruck, absoluten und relativen Herzgewichten bei Goldblatt- und Kontrollratten

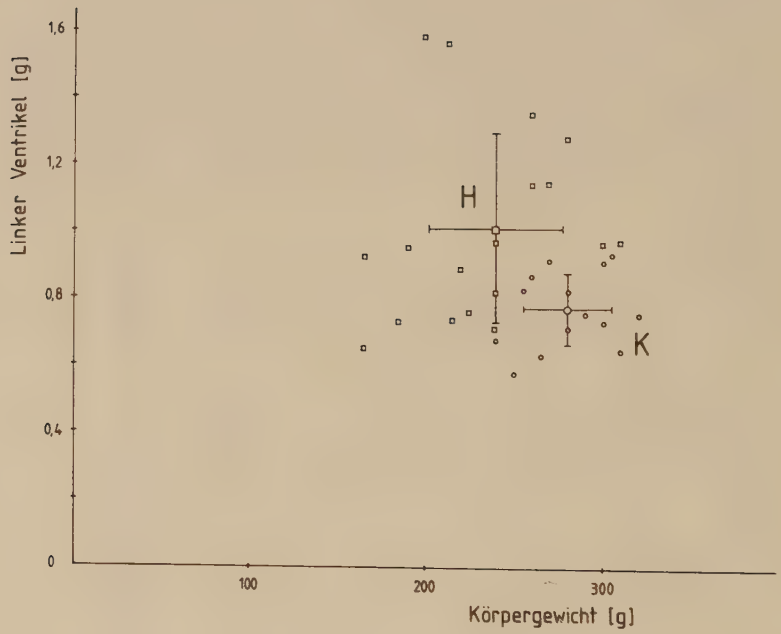

Abb. 9: Vergleich der linksventrikulären Gewichte in Relation zum Körpergewicht bei Goldblatt- (□) und Kontrollratten (o). Aufgetragen sind jeweils die Einzelmessungen sowie Mittelwert und Standardabweichung.

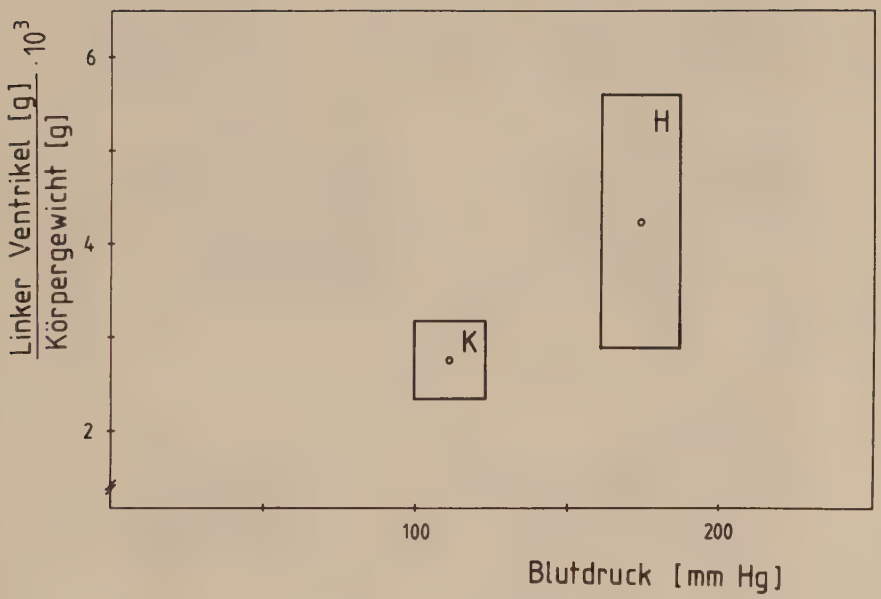

Abb. 10: Vergleich der Beziehung zwischen relativem Herzgewicht und Blutdruck bei Goldblattratten (H) und Kontrollen (K).

	l_{max} [mm]	Quer-schnitt [mm²]	Diastolische Spannung bei l_{max} [10^{-5} N/mm²]	Systolische Spannung bei l_{max} [10^{-2} N/mm²]	Diastolische Spannung bei 90 % l_{max} [10^{-5} N/mm²]	Systolische Spannung bei 90 % l_{max} [10^{-2} N/mm²]
Goldblatt-präparate	5,5±1,1	0,6±0,31	1044±339	6,2±2,3	134±35	2,2±0,8
Kontroll-präparate	5,5±1,1	0,46±0,15	715±150	5,6±1,7	153±78	2,2±1,2
	n.s.	n.s.	p <0,01	n.s.	n.s.	n.s.

Tab. 5: Vergleich von Dimension sowie diastolischen und systolischen Spannungswerten bei Goldblatt- und Kontrollpräparaten.

6a. Einfluß der Pharmaka Nifedipin, Mannitol und EGTA auf die systolische Spannungsentwicklung

Wie aus den Abbildungen 11, 12, 13 und 17 hervorgeht, gibt es bezüglich des Einflusses der genannten Pharmaka auf die systolische Spannung keine Unterschiede zwischen Goldblatt- und Kontrollpräparaten.

6b. Einfluß von Nifedipin auf die diastolische Spannung

Die Versuche wurden bei 90 % von l_{max} durchgeführt. Nifedipin (0,5 mg/l) konnte sowohl bei hypertrophiertem Myokard als auch bei den Kontrollherzen nur in einzelnen Versuchen eine größere Veränderung der diastolischen Spannung bewirken, die bis auf wenige Ausnahmen in einer Spannungszunahme bestand. Bei Wiederzufuhr von Normaltyrodelösung bildete sicheine Kontraktur aus, die nach zwei Minuten ein Maximum erreichte, um dann langsam wieder auf die Ausgangsspannung abzusinken. Es waren keine Unterschiede zwischen Goldblatt- und Kontrollpräparaten zu beobachten (vgl. Abb. 11 und 14).

6c. Einfluß von Mannitollösung auf die diastolische Spannung

Beim Einwirken der kardioplegischen Mannitollösung stieg die diastolische Spannung in den ersten Minuten an, sank wieder ab und näherte sich der diastolischen Ausgangsspannung. Bei Wiederzufuhr von Normaltyrodelösung zeigte sich eine leichte Kontraktur; innerhalb von 30 Minuten wurden für die diastolische Spannung wieder Kontrollwerte registriert. Diese Beobachtungen treffen sowohl für das Goldblatt- als auch für das Kontrollkollektiv zu (vgl. Abb. 12 und 14).

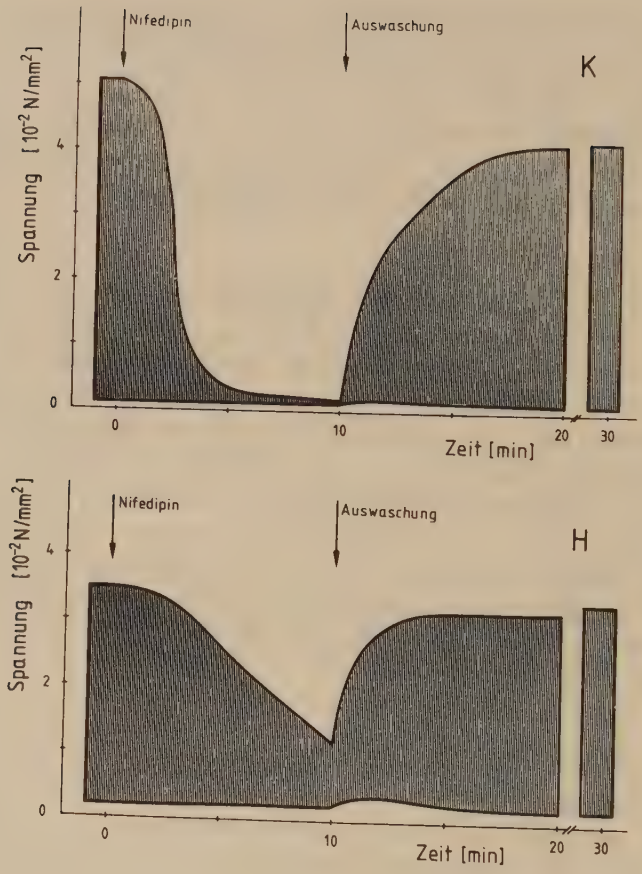

Abb. 11: Diastolishe und systolische Spannungsänderungen unter Nifedipin (0,5 mg/l) bei hypertrophiertem (H) und Kontrollmyokard (K). Vordehnung 90 % l_{max}. Der Unterschied in der Abnahme der systolischen Spannungsentwicklung unter Nifedipin ist nicht repräsentativ.

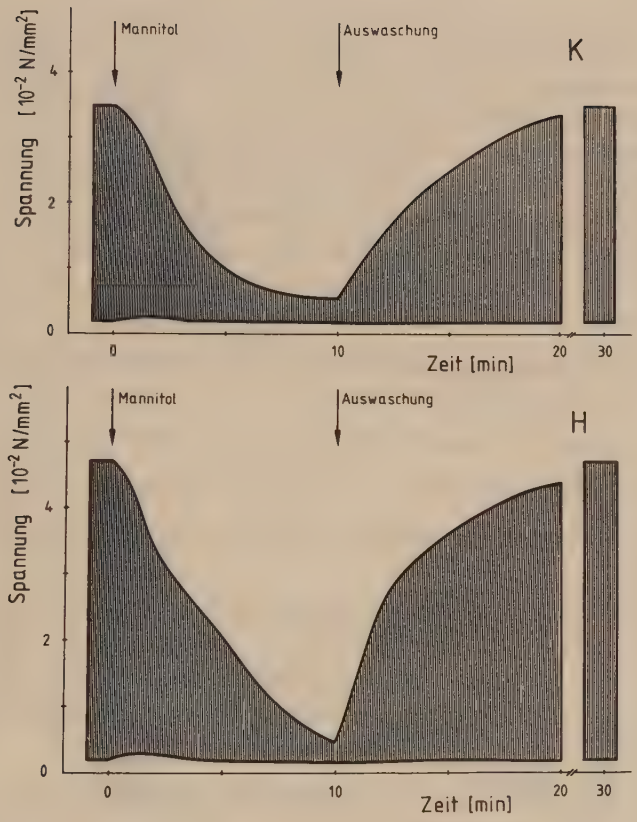

Abb. 12: Zwei repräsentative Versuche: Vergleich des diastolischen und systolischen Spannungsverlaufes unter Mannitol und bei Wiederzufuhr von Normaltyrodelösung bei hypertrophiertem (H) und bei Kontrollmyokard (K). Vordehnung 90 % l_{max}.

6d. Der Einfluß von EGTA auf die diastolische Spannung

Zu Beginn der Einwirkung der EGTA-Lösung treten jeweils gleichzeitigmit den Extrasystolen kurzfristig geringe Schwankungen der diastolischen Spannung auf. Diese diastolischen Spannungsänderungen s ind auf Kontraktionsrückstände bei denhochfrequenten Extrasystolen zurückzuführen; bei Asystolie werdenfür die Diastole wieder die Werte der Ausgangsspannung registriert. Auch nach längerer Asystolie kann weder bei den Kontrolltieren noch bei den hypertensiven Ratten eine wesentliche Veränderung der diastolischen Spannung beobachtet werden (s. Abb. 13 und 14):

Diastolische Spannungsänderungen nach zehnminütiger Einwirkung von EGTA (1,1 mM):

Kontrolltiere: $(-\ 7{,}4 \pm 24{,}9) \cdot 10^{-5}$ N/mm²

Hypertone Tiere: $(+\ 3{,}7 \pm 14{,}0) \cdot 10^{-5}$ N/mm²

Diese Spannungsänderungen sind statistisch nicht signifikant.

Bei Wiederzufuhr der Normaltyrode kam es zu starken diastolischen Spannungsanstiegen - durchschnittlich betrug die Steigerung der diastolischen Spannung ~350 $\cdot 10^{-5}$ N/mm². Erst nach einer Auswaschphase von mehr als einer Stunde war diese Kontraktur vollständig reversibel.

Bei sehr hohen EGTA-Konzentrationen (10 mM) ergab sich ein ähnlicher Kurvenverlauf (s. Abb. 17), es waren keine Unterschiede zwischen den Goldblatt- und Kontrollpräparaten zu beobachten. Die Versuchsergebnisse bei Vorspannungen von 98 % und 100 % von l_{max} zeigten dieselben Ergebnisse (s. Abb. 15 und 16).

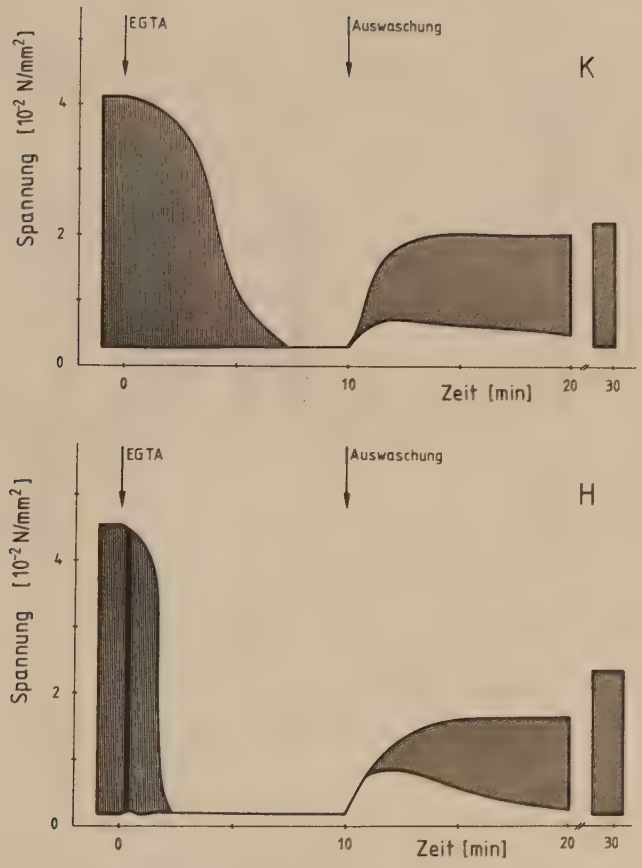

Abb. 13: Zwei repräsentative Versuche: Diastolischer und systolischer Spannungsverlauf unter EGTA (1,1 mM) bei Goldblatt- (H) und Kontrollpräparaten (K). Vordehnung 90 % l_{max}. - Im unteren Teil der Abb. deutet die dichtere Schraffierung die bei EGTA-Zufuhr kurzfristig auftretenden Extrasystolen an.

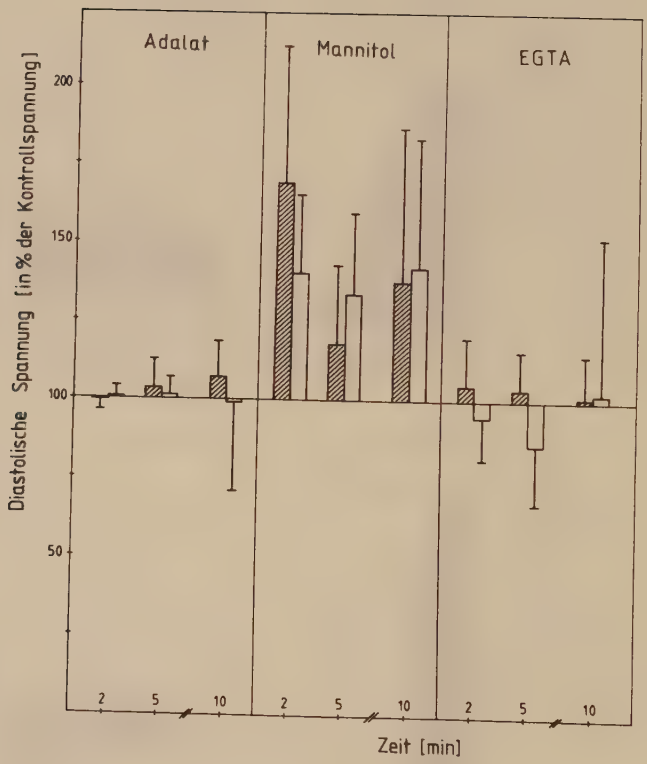

Abb. 14: Diastolische Spannungsänderungen unter dem Einfluß von Nifedipin (0,5 mg/l in calciumfreier Tyrodelösung), Mannitollösung und EGTA (1,1 mM) nach jeweils 2, 5 und 10 Minuten. Vordehnung 90 % l_{max}. Aufgetragen sind die Spannungsänderungen in % der diastolischen Kontrollspannung. Schraffierte Säulen entsprechen hypertrophiertem Myokard (n = 23), weiße Säulen entsprechen Kontrollen (n = 15); die Unterschiede sind statistisch nicht signifikant. Vordehnung 90 % l_{max}.

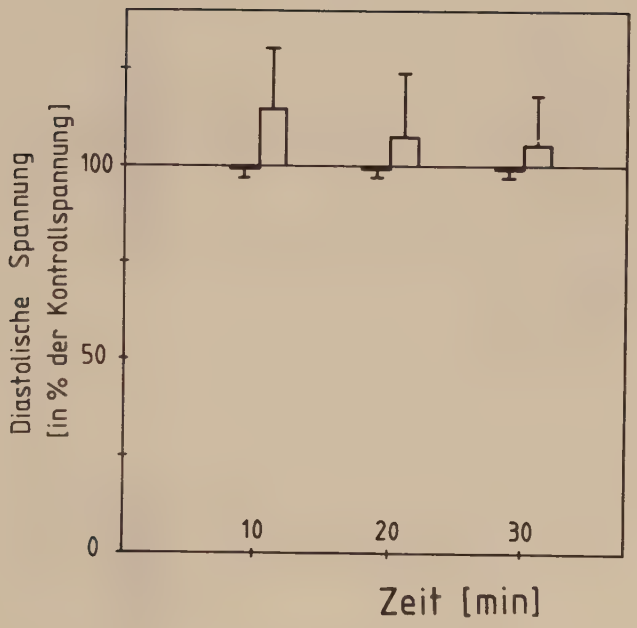

Abb. 15: Diastolische Spannungsänderungen bei l_{max} unter EGTA-Einfluß (10 mM) nach 10, 20 und 30 Minuten. Schraffierte Säulen entsprechen hypertrophiertem Myokard (n = 3), weiße Säulen entsprechen Kontrollen (n = 3). Die Spannungsänderungen sind statistisch nicht signifikant.

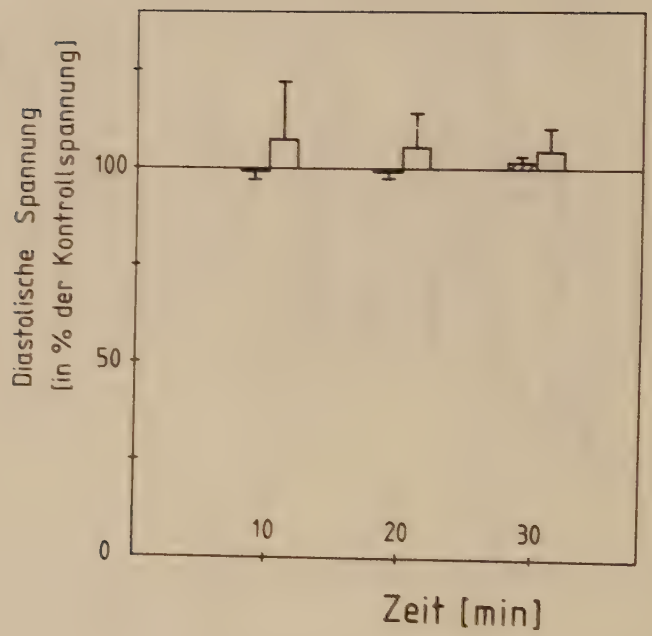

Abb. 16: Diastolische Spannungsänderungen bei 98 % l_{max} unter EGTA-Einfluß (10 mM) nach 10, 20 und 30 Minuten. Schraffierte Säulen entsprechen hypertrophiertem Myokard (n = 3), weiße Säulen entsprechen Kontrollen (n = 3); die Unterschiede sind statistisch nicht signifikant.

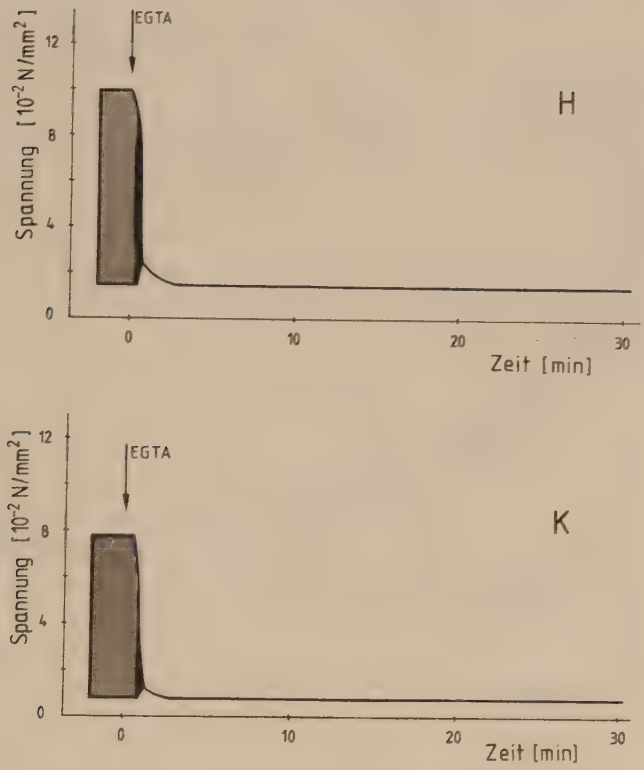

Abb. 17: Zwei repräsentative Versuche: Diastolischer und systolischer Spannungsverlauf unter EGTA-Einfluß (10 mM) bei hypertrophiertem (H) und Kontrollmyokard (K). Vordehnung 100 % l_{max}. - Die im Text erwähnten hochfrequenten Extrasystolen sind durch einedichtere Schraffierung angedeutet.

7. Einfluß von calciumfreier Tyrodelösung auf den Verlauf von Ruhe-Dehnungskurven

Neben den Messungen bei konstanter Muskellänge wurden auch Ruhe-Dehnungskurven unter Ca^{2+}-Entzug gemessen. Als Kontrollen dienten Ruhe-Dehnungskurven, die jeweils vor bzw. nach dem Ca^{2+}-Entzug unter Normaltyrodelösung gemessen wurden. Wie Abb. 19 an hypertrophiertem Myokard zeigt, ändern sich die Ruhe-Dehnungskurven unter calciumfreier Tyrodelösung nur in dem Ausmaß, wie es die plastischen Veränderungen erwarten lassen. Die nachfolgenden Ruhe-Dehnungskurven unter Normaltyrodelösung liegen bei noch geringeren Spannungswerten. Allerdings ist mitunter zu beobachten, daß eine einzelne Ruhe-Dehnungskurve steiler verläuft als die unmittelbar zuvor registrierte.

Unter EGTA-Einfluß sind solche Untersuchungen wegen der dabei notwendigerweise langen EGTA-Einwirkungsdauer nicht möglich, da die nach EGTA-Auswaschung gewonnenen Ruhe-Dehnungskurvenin allen Fällen steiler verlaufen als die erste Kontroll-Ruhedehnungskurve. Dieser irreversible EGTA-Effekt nach langandauernder EGTA-Einwirkung verdeckt somit die durch die Dehnungsmanipulationen hervorgerufenen plastischen Effekte der Präparate.

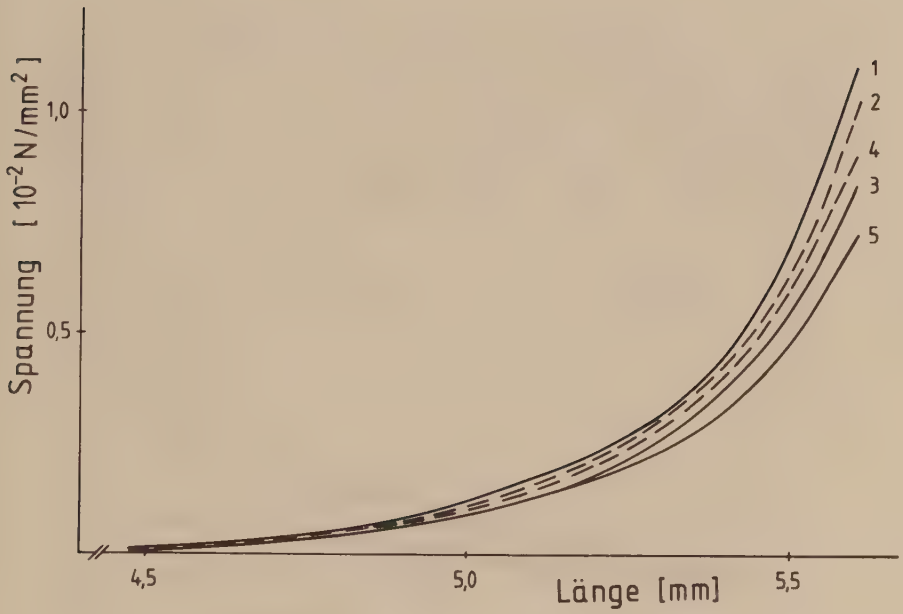

Abb. 18: Fünf aufeinanderfolgende Ruhe-Dehnungskurven an einem Kontrollpräparat. Die Kurven 2 und 4 wurden unter calciumfreier Tyrodelösung gemessen.

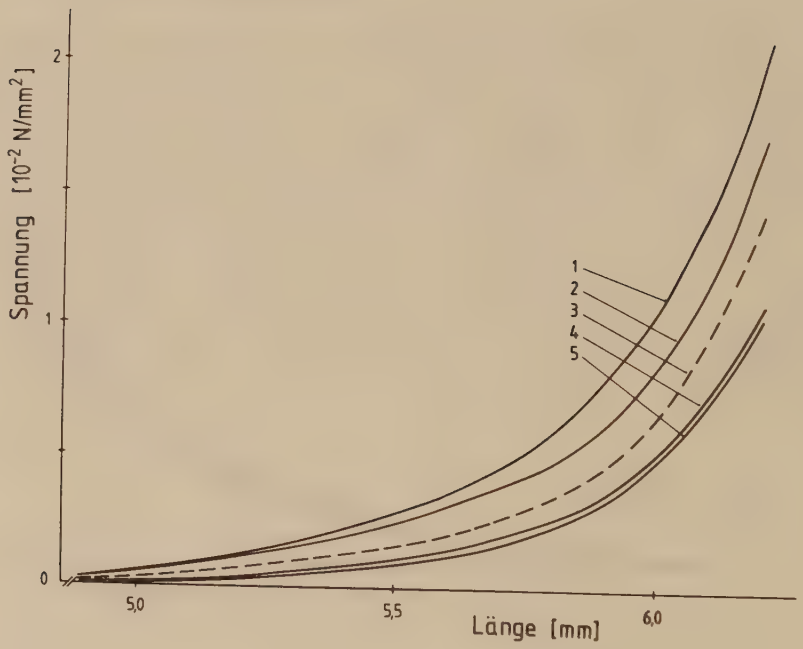

Abb. 19: Fünf aufeinanderfolgende Ruhe-Dehnungskurven an einem Goldblattpräparat. Die mittlere Kurve (3) wurdeunter calciumfreier Tyrodelösung registriert (als Kontrollversuch vgl. Abb. 18).

IV. DISKUSSION

1. Diastolische Ruhespannung bei Kontrollmyokard

Bei Skelettmuskelpräparaten werden bei derjenigen Vordehnung, bei der eine maximale systolische Spannungsentwicklung zu beobachten ist, nur unwesentliche bzw. gar keine diastolischen Ruhespannungswerte registriert (EVANS und HILL, 1915, sowie RAMSEY und STREET, 1940). Bei dieser Vordehnungsstufe (l_{max}) werden Sarkomerenlängen von 2,0 - 2,2 µ gemessen (SJÖSTRAND und ANDERSSON-CEDERGREEN, 1957 und CARLSON et al., 1961). SPIRO und SONNENBLICK (1964) und SONNENBLICK et al. (1964) zeigten am Herzmuskel, daß bei der gleichen Sarkomerenlänge (2,0 - 2,2 µ) ebenfalls die maximale aktive Spannung entwickelt wird. Bei Myokardpräparaten werden in diesem Vordehnungsbereich jedoch schon erhebliche diastolische Ruhespannungen gemessen. Bei zunehmender Dehnung ist also die Verlaufsform der systolischen Spannungsentwicklung bei Herz- und Skelettmuskel gleich, jedoch ist ein früherer Anstieg der Ruhe-Dehnungskurve bei der Herzmuskulatur zu verzeichnen.

Oberhalb eines bestimmten Dehnungsgrades bewirkt die Dehnung parallelelastischer bindegewebiger Strukturen selbst beim Skelettmuskel eine Steigerung der diastolischen Ruhespannung und leistet somit einen Beitrag zur Ruhedehnungskurve; für den Skelettmuskel zeigten dies PODOLSKY (1964), BANUS und ZETLIN (1938), RAMSEY und STREET (1940) bei einer Überdehnung des Muskels, wobei die systolische Spannungsentwicklung entsprechend dem geringeren Überlappungsgrad der Aktin- und Myosinfilamente mit steigender Dehnung abnimmt (GORDON et al., 1966; PODOLSKY, 1964; SONNENBLICK und SKELTON, 1974).

Inwieweit sind nun bei Myokardpräparaten derartige bindegewebige Strukturen am Zustandekommen der Ruhe-Dehnungskurve

auch schon in physiologischen Vordehnungsbereichen beteiligt, bei denen also die maximalen systolischen Spannungswerte noch nicht erreicht sind, andererseits jedoch eine steigende diastolische Spannung zu registrieren ist?

REICHEL (1938 und 1953) sowie SONNENBLICK und SKELTON (1974) postulieren, daß die Ruhe-Dehnungskurve des Myokards im wesentlichen durch passive Elemente bedingt sei. GAY und JOHNSON (1967) fanden im Herzmuskel einen 6-7fach höheren Kollagengehalt als in der Skelettmuskulatur; in der parallelelastischen Wirkung dieses höheren bindegewebigen Anteils sehen sie die Ursachen für die in physiologischen Vordehnungsbereichen im Verhältnis zum Skelettmuskel hohe Ruhespannung des Myokardpräparates.

Diese bindegewebigen Strukturen versuchten GRIMM und WHITEHORN (1966) zu entfernen, indem sie ihren Präparaten proteolytische Enzyme zusetzten. Dabei konnte keine selektive Verminderung der Ruhespannung erzielt werden. GRIMM und WHITEHORN schließen daraus, daß die diastolische Spannungsabnahme durch den Verlust einer zellulären bzw. intrazellulären Komponente verursacht wird, evtl. auch durch Zerreißungen an den Glanzstreifen. - Die von MUIR (1968) beschriebenen Glanzstreifendehiszenzen unter Ca^{2+}-Entzug müßten bei den in dieser Studie durchgeführten Experimenten mit calciumfreier Tyrodelösung ebenfalls auftreten; es konnten unter diesen Versuchsbedingungen jedoch keine signifikanten Änderungen der Ruhespannung beobachtet werden.

Durch Aktomyosin- bzw. Myosin-Extraktion weisen GRIMM und WHITEHORN (1966) die Beteiligung der Aktinfilamente am Zustandekommen der Ruhespannung in Vordehnungsbereichen unterhalb von l_{max} nach. Diese Befunde sind auch mit den von HANSON und HUXLEY (1955) beschriebenen S-Filamenten, einer linearkontinuierlichen Verbindung von Aktin- zu

Aktinfilamenten (bzw. parallel zu den Aktinfilamenten), vereinbar und ebenso mit dem von FABIATO et al. (1975) aufgezeigten Myofilamentengitter.

Nach WEZLER (1962 und 1966) ist am Zustandekommen der myokardialen Ruhespannung eine variable Interaktion zwischen Aktin- und Myosinfilamenten ausschlaggebend, d.h. der von WEZLER geforderte "aktive kontraktile diastolische Tonus" wird durch Aktin-Myosin-Interaktionen in unterschiedlich starker Ausprägung aufgebaut. Ebenfalls eine Ankoppelung zwischen den Aktin- und Myosinfilamenten postulieren LUISADA und WEISS (1954), MATSUBARA und MILLMANN (1972) sowie SCHERLAG et al. (1966) als Ursache für die myokardiale Ruhespannung. Bis zu einer Sarkomerenlänge von 2,4 µ gaben FABIATO et al. (1975) entsprechende Befunde an. Auch an Skelettmuskelpräparaten fand D.K. HILL (1968) einen aktiv bedingten Anteil der Ruhe-Dehnungskurve, sog. "filamentary resting tension"; er stellte jedoch fest, daß diese FRT nur unter hyperosmotischen Versuchsbedingungen einen meßbaren Anteil der Ruhespannung trägt, während unter physiologischen Bedingungen lediglich ein ganz geringer Anteil der Ruhespannung auf die FRT zurückgeführt werden kann.

Wie WEZLER (1966) sowie KOALL und PFEIFFER (1971) erwähnen, muß an der Einstellung einer solchen aktiven Ruhespannung auch die elektromechanische Koppelung beteiligt sein. Die entscheidende Rolle bei der Regulation der elektromechanischen Koppelung kommt der Konzentration der ionisierten Ca^{2+}-Ionen zu (HASSELBACH, 1976). Bei den Experimenten der vorliegenden Arbeit wurde die elektromechanische Koppelung in den Herzstreifenpräparaten durch die Zufuhr von calciumfreier Tyrodelösung ausgeschaltet. Als Kontrolle für die Effektivität dieser Manipulation diente die Abnahme der systolischen Spannungsentwicklung, sie betrug nach

einem 10-minütigen Ca^{2+}-Entzug 60 - 90 %. Eine signifikante Änderung der diastolischen Spannung war dabei jedoch nicht zu beobachten - eine durch aktive Koppelung der Aktin- und Myosinfilamente bedingte Ruhespannung hätte in diesen Versuchen zumindest vermindert werden müssen. Möglicherweise genügen für die Aktivierung der diskutierten Vorgänge aber auch schon sehr geringe intrazelluläre Ca^{2+}-Konzentrationen.

Deshalb wurde der Calcium-Antagonist Nifedipin zugesetzt. Nifedipin bewirkt eine selektive Hemmung des transmembranären Ca^{2+}-Influxes durch die langsamen Kanäle, während elektrische Erregbarkeit, Na^{+}-Ein- und K^{+}-Ausstrom unbeeinflußt bleiben; auch Mitochondrien, Sarkoplasmatisches Retikulum und Myofibrillen werden durch die Nifedipinwirkung nicht unmittelbar betroffen (FLECKENSTEIN et al., 1972; SPÄH et al., 1978). Unter diesen Versuchsbedingungen (Nifedipin in calciumfreier Tyrodelösung) stellte sich eine noch stärkere Abnahme der systolischen Spannungsentwicklung ein. Die Spannungsreduktion betrug zwischen 80 und 100 %. Dabei blieben die diastolischen Spannungswerte jeweils unverändert. - Auch wenn extrazellulär eine minimale Ca^{2+}-Ionen-Konzentration erreicht und der transmembranäre Ca^{2+}-Influx gehemmt wird, besteht die Frage, inwiefern noch Ca^{2+}-Ionen in den intrazellulären Ca^{2+}-Speichern (Sarkoplasmatisches Retikulum) verbleiben und somit über den kontraktilen Apparat evtl. zu der diskutierten diastolischen Spannung beitragen könnten.

Äthylenglykol-bis (2-aminoäthyl-äther) N,N'-tetraessigsäure (EGTA) bewirkt eine starke Bindung von Ca^{2+}-Ionen (WEBER und WINICUR, 1961; PORTZEHL et al., 1964). MILLER und MÖRCHEN (1978) fanden am Herzmuskel (im Gegensatz zu den Ergebnissen von ARMSTRONG et al., 1972) eine nur mäßige Veränderung des Ruhe-Membranpotentials bei der Anwendung

des Chelatbildners EGTA; bei Zugabe von Ca^{2+}-Ionen war auch die besonders ins Auge fallende Verlängerung des Aktionspotentials sofort reversibel. Bei der Anwendung von EGTA in calciumfreier Tyrodelösung wäre aufgrund der Dissoziationskonstanten von CaEGTA zu postulieren, daß aus dem membranären Ruhestrom Calcium an EGTA gebunden wird und somit auch eine Verminderung der intrazellulären Ca^{2+}-Konzentration eintritt. Entsprechend der Fließgeschwindigkeit im Muskelbad wurden die an EGTA gebundenen Ca^{2+}-Ionen laufend entfernt. - Die starke Wirkung dieser EGTA-Lösung wurde an der schnellen Abnahme der systolischen Spannungsentwicklung deutlich, besonders bei hohen EGTA-Konzentrationen (10 mM), unter deren Einfluß innerhalb von 1-2 Minuten keine systolische Spannung mehr registriert wurde. Die bei beginnender EGTA-Zufuhr auftretenden hochfrequenten Extrasystolen und die damit verbundenen Kontraktionsrückstände und evtl. kurzfristige Kontrakturen können durch die von WINEGRAD (1971) und MILLER (1976) erwähnten Membranwirkungen erklärt werden. Diastolische Spannungsänderungen zeigten sich abgesehen von diesen kurzfristigen, sofort reversiblen Veränderungen nicht. Insbesondere wurde die diastolische Ausgangsspannung nicht unterschritten. Auch wenn das extrazelluläre pCa unter diesen Versuchsbedingungen unendlich hoch wird, so stellt sich doch wiederum die Frage, inwieweit die intrazelluläre Ca^{2+}-Ionen-Konzentration durch diese Manipulationen ausreichend zu beeinflussen ist. Die von WINEGRAD (1971) beobachtete Permeabilitätserhöhung der Zellmembran infolge von EDTA-Behandlung konnten FABIATO und FABIATO (1972) auch unter EGTA-Einwirkung nachweisen, jedoch wurden unter EGTA weniger eindeutige Erhöhungen der Membranpermeabilität verzeichnet als unter EDTA (bzw. es waren höhere EGTA-Konzentrationen nötig). Unter diesen Gesichtspunkten müßten auch die intrazellulär gespeicherten Ca^{2+}-Ionen durch eine 10-

bzw. 30-minütige EGTA-Behandlung weitgehend entfernt werden. - Wurde der Calcium-Entzug mittels Zitrat, einem Ca^{2+}-Komplex-Bildner (vgl. BARRETT und BARRETT, 1978), vorgenommen, so konnte ebenfalls nur eine Reduktion der systolischen Spannung beobachtet werden, die diastolische Spannung blieb konstant.

Die isotonische Mannitollösung (calcium- und glucosefrei) nach BRETSCHNEIDER (1978) soll eine ruhigstellende und relaxierende Wirkung auf das Myokard ausüben. In dieser Arbeit konnte zwar eine starke Reduktion der systolischen Spannungsentwicklung unter Zufuhr der Mannitollösung registriert werden, eine Abnahme der diastolischen Ruhespannung wurde jedoch nicht beobachtet. Vielmehr kam es durchschnittlich zu einem leichten Anstieg der Ruhespannung.

Zusammenfassend kann also festgestellt werden, daß bei Herzstreifenpräparaten durch verschiedene Arten des Ca^{2+}-Entzugs lediglich die aktive systolische Spannungsentwicklung zu senken bzw. aufzuheben ist, ohne daß durch diesen Ca^{2+}-Entzug gleichzeitig eine Senkung der diastolischen Ruhespannung möglich ist. Würde die diastolische Spannung - wenn auch nur teilweise - auf denselben Prozessen wie die aktive Spannungsentwicklung beruhen, so hätte bei den durchgeführten Experimenten eine Abnahme der diastolischen Spannung auftreten müssen. Es ist daher die Aussage gerechtfertigt, daß der diastolischen Spannung eine völlig andere Ursache zugrunde liegt als der aktiven Spannungsentwicklung. - Diese Aussagen beziehen sich nur auf Myokardpräparate unter physiologischen Bedingungen. Eine Zunahme des "diastolischen Tonus" bei Hypoxie, d.h. eine Abnahme der Dehnbarkeit, wie von JACOB et al. (1975), MOSER (1977) sowie HOLUBARSCH und JACOB (1980) beschrieben, wird davon ebensowenig berührt wie eine Steifheitszunahme unter Versuchsbedingungen mit hypertonen Lösungen (HILL, 1968).

Dagegen kann eine calciumunabhängige Aktivierung der Querbrücken als Beitrag zur diastolischen Spannung auch unter physiologischen Bedingungen nicht ausgeschlossen werden. Eine Beteiligung der von HUXLEY und HANSON (1954) beschriebenen S-Filamente und von extrazellulär gelegenem Bindegewebe wird durch die vorliegende Arbeit wahrscheinlich gemacht.

2. Die diastolische Ruhespannung bei hypertrophiertem Myokard

Durch Stenosierung einer Nierenarterie kommt es infolge eines gesteigerten Reninspiegels (Literatur bei HELMCHEN, 1973) zu einer Erhöhung des Blutdrucks (FASCIOLO, 1938; WILSON und BYRON, 1939). In der vorliegenden Arbeit zeigten die Versuchstiere mit operativ angelegter Nierenarterienstenose eine signifikante Blutdruckerhöhung. Die durchschnittlichen Blutdruckwerte betrugen 174 $\pm$ 13 mmHg gegenüber 111 $\pm$ 12 mmHg bei den Kontrolltieren (vgl. KISSLING et al., 1977). Als Anpassungsvorgang an die chronische Druckbelastung trat eine Herzhypertrophie auf, meßbar an einer signifikanten Zunahme des absoluten und relativen linksventrikulären Herzgewichtes. Die Zunahme des relativen linksventrikulären Herzgewichtes ist stärker ausgeprägt als die des absoluten, weil die Goldblatt-Ratten in der Entwicklung ihres Körpergewichtes signifikant zurückblieben (vgl. hierzu MEDUGORAC, 1976).

Die systolischen und diastolischen Eigenschaften des Ganzherzens (maximale Spannungs-Anstiegsgeschwindigkeit, maximale Spannungsentwicklung, diastolische Druck-Volumenbeziehung, Dehnbarkeit) werden durch den myokardialen Hypertrophieprozeß verändert (JACOB, 1976; KRAYENBÜHL und SENNING, 1976; KISSLING et al., 1977; PETERSON et al., 1978; GROSSMANN und BARRY, 1980).

Es muß überlegt werden, ob sich dieser Hypertrophieprozeß auch auf die Myokardtrabekel, die in dieser Arbeit repräsentativ für den gesamten Herzmuskel untersucht werden, erstreckt. BING et al. (1971) und KÄMMEREIT (1976) zeigten, daß die hypertrophiebedingten Alterationen der myokardialen Eigenschaften auch die Herztrabekel betreffen; neben Änderungen der systolischen Eigenschaften fanden sie auch eine signifikante Abnahme der myokardialen Dehnbarkeit. Entsprechende Befunde konnten ALPERT et al. (1974) auch an rechtsventrikulären Papillarmuskeln von Tieren mit Herzhypertrophie bei Pulmonalarterienstenose erheben. Auch bei den Goldblatt-Präparaten in der vorliegenden Arbeit ergibt sich bei l_{max}, d.h. derjenigen Vordehnung, bei der die maximale systolische Spannungsentwicklung erreicht ist, eine signifikante Erhöhung der diastolischen Spannung. - Darüber hinaus ist histologisch gezeigt worden, daß bei Herzhypertrophie eine Zunahme des Durchmessers der Herzmuskelzellen (FISHER und KAVALER, 1971) sowie der Myokardfasern (SPANN et al., 1967) auch in den Papillarmuskeln auftritt.

Die Ursache für die bei Herzhypertrophie vorliegenden Veränderungen der systolischen Myokardeigenschaften (Abnahme der maximalen Verkürzungsgeschwindigkeit (JACOB et al., 1976) bei weitgehender Konstanz oder gar Zunahme der Spannungsentwicklung (KÄMMEREIT, 1976)) und für die Abnahme der Dehnbarkeit kann prinzipiell sowohl in Veränderungen der kontraktilen wie auch der parallelelastischen Strukturen gesehen werden. In den späteren Stadien der Goldblatt-Hypertrophie (24 Wochen p.o.) dürften mit Sicherheit parallelelastische Elemente in Form von Bindegewebe für die erhöhte diastolische Spannung mitverantwortlich sein. Dies demonstrierte MEDUGORAC (1976) anhand der signifikant erhöhten Hydroxyprolinkonzentration in späten Stadien der

Goldblatt-Hypertrophie. Auch histologisch konnten diese Ergebnisse bestätigt werden (WENDT-GALLITELLI, 1979).

Wodurch sind jedoch die Erhöhungen der diastolischen Spannung in früheren Hypertrophiestadien bedingt? Ebenso wie bei Aortenstenose (BING et al., 1971) und Pulmonalarterienstenose (BUCCINO et al., 1969) schon wenige Wochen nach Anlegen der Stenose Erhöhungen der Hydroxyprolin-Konzentration nachgewiesen wurden, kann auch bei der Goldblatt-Hypertrophie die Hydroxyprolin-Konzentration bereits im 8-Wochen-Stadium erhöht sein (HOLUBARSCH, 1980).

Ausgangspunkt für die vorliegende Studie war der Befund von KÄMMEREIT (1976), daß die myokardiale Dehnbarkeit bei Goldblatt-Präparaten bereits im 4-Wochen-Stadium signifikant vermindert sein kann. Um zu klären, welche Genese dieser Dehnbarkeitsabnahme zugrundeliegt, wurden in der vorliegenden Studie Experimente im 4- bis 6-Wochen-Stadium bei Goldblatt-Ratten durchgeführt. Die Zuordnung der mechanischen Eigenschaften zur Hydroxyprolin-Konzentration wird erschwert durch die Tatsache, daß in aller Regel die Hydroxyprolinbestimmungen nicht in dem gleichen individuellen Myokardpräparat durchgeführt werden können.

Neben einer veränderten Gewebestruktur sind auch funktionelle Änderungen im Bereich der kontraktilen Prozesse für den steileren Verlauf der Ruhe-Dehnungskurve bei Goldblatt-Präparaten denkbar. In dieser Hinsicht ist an die Ausbildung eines hypoxischen Kerns zu denken (FREZZA und BING, 1976). Eine hypoxische Kontraktur kommt jedoch bei den Goldblatt-Präparaten dieser Arbeit nicht in Betracht, da erstens die Querschnitte der Goldblatt-Präparate nicht signifikant größer sind, und da zweitens die maximale systolische Spannungsentwicklung gegenüber den Kontrollpräparaten erhöht ist, was als Zeichen für eine ausreichende Sauerstoffversorgung gewertet werden kann.

MEERSON (1976) beschreibt Hypertrophie als einen nicht ausbalancierten Wachstumsprozeß, bei dem die Myokardzellen und deren Organellen von einem unkoordinierten Wachstum betroffen sind. Dadurch soll es infolge einer geschwächten Funktion des Sarkoplasmatischen Retikulums zu einer - relativ zur Zellmasse - herabgesetzten Leistungsfähigkeit der Na^+-K^+-Pumpe und des Na^+-Ca^{2+}-Austauschmechanismus kommen. Auch HARIGAYA und SCHWARTZ (1969) fanden eine verminderte Akkumulationsfähigkeit des Sarkoplasmatischen Retikulums für Ca^{2+}-Ionen beim hypertrophierten Myokard. Die demzufolge erhöhte Ca^{2+}-Ionen-Konzentration an den kontraktilen Strukturen und die dadurch verursachte Aktivierung von Querbrücken betrachtet MEERSON als Ursache für die verminderte Dehnbarkeit des hypertrophierten Myokards.- Wenn die erhöhten diastolischen Spannungswerte in der Tat durch eine erhöhte myoplasmatische Ca^{2+}-Ionen-Konzentration während der Diastole bedingt sind, müßten sie - zumindest bei Vordehnungsbereichen unterhalb von l_{max} - durch Calcium-Entzug auf die diastolischen Spannungswerte der Kontrollpräparate zu senken sein.

Der in dieser Arbeit durchgeführte Ca^{2+}-Entzug mittels Nifedipin und EGTA in calciumfreier Tyrodelösung konnte zwar die oben beschriebenen stark negativen Effekte auf die systolische Spannungsentwicklung ebenfalls an den Goldblatt-Präparaten bewirken, eine signifikante Senkung der diastolischen Spannung konnte unter diesen Versuchsbedingungen jedoch nicht erreicht werden. Auch die calciumfreie Mannitollösung zeigt keinen signifikanten Unterschied in der Wirkung auf die diastolische Spannung von Goldblatt- und Kontrollpräparaten; hier ist - wie bereits bei den Kontrollpräparaten aufgezeigt - eher eine Steigerung der diastolischen Spannung gegenüber den Ausgangsbedingungen zu verzeichnen. - Diese Ergebnisse sprechen gegen die These von MEERSON (1976), daß die Ursachen für die erhöhte

diastolische Spannung beim hypertrophierten Myokard in einer calciumbedingten, überdauernden Ankoppelung von Querbrücken als Folge einer relativen Insuffizienz des Sarkoplasmatischen Retikulums zu sehen sind.

Die von GRIMM et al. (1966), SCHREIBER et al. (1966) und MEDUGORAC (1976) beobachtete Zunahme der myofibrillären Proteine pro Myokardeinheit im Rahmen des Hypertrophieprozesses könnte außer durch ihre funktionelle Komponente auch allein aufgrund ihrer strukturellen Veränderungen die Myokardeigenschaften beeinflussen. Die schon zu Beginn des Hypertrophievorganges auftretende Vermehrung der kontraktilen Strukturen bedeutet nämlich zwangsläufig auch eine quantitative Zunahme der S-Filamente (HUXLEY und HANSON, 1954); eine Steigerung der diastolischen Spannung, die auf diesen parallelelastischen Strukturen beruht, ist auch schon in einem frühen Stadium des Hypertrophievorgangs sehr wohl denkbar.

Auch eine Zunahme der inneren und äußeren Membranen der hypertrophierten Herzmuskelzellen wäre durchaus mit den diastolischen Spannungserhöhungen bei Goldblatt-Präparaten vereinbar (PODOLSKY, 1964, SONNENBLICK und SKELTON, 1974).

Als Schlußfolgerung kann festgehalten werden, daß in frühen Stadien der Myokardhypertrophie eine calciumbedingte Aktivierung des kontraktilen Systems nicht am Zustandekommen der erhöhten diastolischen Spannung beteiligt ist. Vielmehr ist für diesen frühen Zeitpunkt des Hypertrophieprozesses (4-6 Wochen bei Goldblatt-Hypertrophie) eher eine Vermehrung der S-Filamente entsprechend der erhöhten myofibrillären Proteinkonzentration in Erwägung zu ziehen. Es kann auch eine separate Zunahme der S-Filamente als Ursache für die Dehnbarkeitsabnahme bei Herzhypertrophie in Frage kommen. Oder die steiler verlaufende Ruhe-Dehnungs-

kurve ist auch im Frühstadium der Herzhypertrophie beim Goldblatt-Modell durch einen gesteigerten myokardialen Bindegewebsgehalt bedingt.

Die Bedeutung der verminderten Dehnbarkeit des hypertrophierten Myokards scheint für die isometrische Kontraktionsfähigkeit des Myokards unerheblich zu sein. Dagegen zeigt das hypertrophierte Myokard veränderte Eigenschaften im Verkürzungsvorgang - eine Tatsache, die bei der Interpretation der maximalen Verkürzungsgeschwindigkeit (V_{max}) berücksichtigt werden muß.

Zum Erreichen des Optimums der systolischen Spannungsentwicklung sind beim hypertrophierten Myokard höhere diastolische Spannungswerte - und somit beim Ganzherz höhere Druckwerte - erforderlich. In dieser Hinsicht könnte eine verminderte myokardiale Dehnbarkeit einen Beitrag zur Leistungsminderung des Gesamtorgans bedeuten.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. In der vorliegenden Arbeit wird die Frage untersucht, ob eine calciumbedingte Ankoppelung von Aktin- und Myosinfilamenten in Diastole ganz oder teilweise als Ursache für die myokardiale diastolische Spannung anzusehen ist. Weiterhin wird der Frage nachgegangen, ob eine calciumbedingte Aktivierung der Querbrücken für die Abnahme der myokardialen Dehnbarkeit bei Herzhypertrophie mitverantwortlich ist.

2. Als Versuchstiere dienten 65 männliche Wistar-Ratten. Die Herzmuskel-Trabekel aus dem linken Ventrikel von 47 Kontrolltieren hatten bei l_{max} eine durchschnittliche Länge von 4,9 $\pm$ 1,0 mm, einen Querschnitt von 0,53 $\pm$ 0,26 mm², diastolische Spannung (0,753 $\pm$ 0,362)$\cdot 10^{-2}$ N/mm²), systolische Spannung (4,99 $\pm$ 2,35)$\cdot 10^{-2}$ N/mm².

3. Bei Superfusion mit calciumfreier Tyrodelösung sank die systolische Spannung innerhalb von 10 Minuten um 60 - 90 % (nach 20 - 60 Minuten um 92 $\pm$ 10 %), die Veränderungen der diastolischen Spannung waren minimal.

4. Bei Zufuhr von Nifedipin (0,1 - 10 mg/l in calciumfreier Tyrodelösung) wurde innerhalb von 10 Minuten eine systolische Spannungsabnahme um 80 - 90 % registriert. Signifikante diastolische Spannungsänderungen konnten nicht beobachtet werden.

5. Eine kardioplegische Mannitollösung (glucose- und calciumfrei) führte innerhalb von 10 Minuten zu einer Verminderung der systolischen Spannungsentwicklung auf 14 $\pm$ 13 %. Die diastolischen Spannungswerte zeigten eher eine ansteigende Tendenz.

6. Unter der Einwirkung von EGTA (0,22 - 10 mM in calciumfreier Tyrodelösung) stellte sich innerhalb von 1 - 6 Minuten Asystolie ein. Auch nach einer Einwirkungsdauer der EGTA-Lösung von 30 Minuten konnten keine signifikanten diastolischen Spannungsänderungen registriert werden.

7. Bei 18 Tieren wurde durch das Anlegen einer operativen Nierenarterienstenose eine Goldblatt-II-Hypertonie erzeugt mit nachfolgender druckbedingter Linksherzhypertrophie (durchschnittliche relative Massenzunahme des linken Ventrikels: 54 %). -
Bei l_{max} waren die Länge, der Querschnitt und die systolische Spannung gegenüber den Kontrollpräparaten erhöht (nicht signifikant), die diastolische Spannung zeigte eine signifikante Zunahme.

8. Die Reaktion der Goldblatt-Präparate auf EGTA, Nifedipin und auf die Mannitollösung unterschied sich nicht von den bei den Kontrollpräparaten angegebenen Ergebnissen. Insbesondere konnte unter den angegebenen Versuchsbedingungen keine Senkung der diastolischen Spannung erreicht werden.

9. Die Ergebnisse sprechen dagegen, daß bei normalem oder bei hypertrophiertem Myokard eine calciumbedingte Ankoppelung der Querbrücken am Zustandekommen der diastolischen Spannung maßgeblich beteiligt ist.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

ALPERT, N.R., B.B. HAMRELL, and W. HALPERN: Mechanical and biochemical correlates of cardiac hypertrophy. Circulat. Res. 34/35 II, 71-82, 1974

ARMSTRONG, C.M., F.M. BEZANILLA, and P. HOROWICZ: Twitches in the presence of ethylene glycol bis (β-aminoethyl ether)-N,N'-tetraacetic acid. Biochim. Biophys. Acta 267, 605-608, 1972

BANUS, M.G. and A.M. ZETLIN: The relation of isometric tension to length in skeletal muscle. J. Cellular Comp. Physiol. 12, 403-420, 1938

BARRETT, J.N. and E.F. BARRETT: Excitation-contraction coupling in skeletal muscle. Blockade by high extracellular concentrations of calcium buffers. Science 200, 1270, 1978

BING, O.H.L., S. MATSUSHITA, B.L. FANBURG and H.J. LEVINE: Mechanical properties of rat cardiac muscle during experimental hypertrophy. Circulat. Res. 28, 234-245, 1971

BOTAZZI, P.: The oscillations of the auricular tonus in the batrachian heart with a theory on the function of sarcoplasma in muscular tissues. J. of Physiol. (Lond.) 21, 1-21, 1897

BRETSCHNEIDER, H.J.: Persönliche Mitteilung, 1978.

BUCCINO, R.A., E. HARRIS, J.F. SPANN jr., and E.H. SONNENBLICK: Response of myocardial connective tissue to development of experimental hypertrophy.
Amer. J. Physiol. 216 (2), 425-428, 1969

CARLSON, F., B.C. KNAPPEIS and F. BUCHTHAL: Ultrastructure of the resting and contracted striated muscle fibers at different degrees of stretch.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 11, 95, 1961

EVANS, C.L. and A.V. HILL: The relation of tension development and heat production on contraction in muslce.
J. of Physiol. (Lond.) 49, 10-16, 1915

FABIATO, A. and F. FABIATO: Excitation-contraction coupling of isolated cardiac fibers with disrupted or closed sarcolemmas.
Circulat. Res. 31, 293-307, 1972

FABIATO, A., F. FABIATO and P. BENT: Sarcomere length dependence of resting and active tension of skinned cardiac cells.
Biophysical Journal 15, 152a, 1975

FASCIOLO, J.C.: Action de rein sain sur l'hypertension artériell par ischémie rénale.
Comp. Rend. Seances Soc. Biol. 128, 1129-1132, 1938

FISHER, V.J. and F. KAVALER: Maximal force development by hypertrophied right ventricular papillary muscles remained in situ. In Cardiac Hypertrophy, edited by N.R. Alpert, New York. Academic Press, 1971, p. 371-385

FLECKENSTEIN, A., H. TRITTHART, H.-J. DÖRING und K.Y. BYON: BAY a 1040 - ein hochaktiver Ca^{++}-antagonistischer Inhibitor der elektromechanischen Koppelungsprozesse im Warmblüter-Myokard.
Arzneim.-Forsch. (Drug Res.) 22, 22-33, 1972

FRANK, O.: Zur Dynamik des Herzmuskels.
Z. Biol. 32, 371-437, 1895

FREZZA, W.A. and O.H.L. BING: P_{O_2}-modulated performance of cardiac muscle.
Amer. J. Physiol. 231, 1620-1624, 1976

GASKELL, W.H.: On the tonicity of the heart and blood vessels.
J. of Physiol. (Lond.) 3, 48-75, 1880

GAY, W.A. and E.A. JOHNSON: An anatomical evaluation of the myocardial length-tension diagram.
Circulat. Res. 21, 33-43, 1967

GORDON, A.M., A.F. HUXLEY and F.J. JULIAN: The variation in isometric tension with sarcomere length in vertebrate muscle fibers.
J. of Physiol. (Lond.) 184, 170-192, 1966

GRIMM, A.F. and W.V. WHITEHORN: Characteristics of resting tension of myocardium and localisation of its elements.
Amer. J. Physiol. 210 (6), 1362-1368, 1966

GRIMM, A.F., R. KUBOTA, and W.V. WHITEHORN: Ventricular nucleic acid and protein levels with myocardial growth andhypertrophy.
Circulat. Res. 19, 552-558, 1966

GROSSMANN, W. and W.H. BARRY: Diastolic pressure-volume relations in the diseased heart.
Federation Proc. 39, 148-155, 1980

HANSON, J. and H.E. HUXLEY: Structural basis of contraction in striated muscle.
Symp. Soc. Expl. Biol. 9, 228-264, 1955

HARIGAYA, S. and A. SCHWARTZ: Rate of calcium bindung and uptake in normal animal and failing human cardiac muscle.
Circulat. Res. 25, 781-794, 1969

HASSELBACH, W.: Physiologische Grundlagen der Ventrikelkontraktion in molekularbiologischer Sicht.
Verh.Dtsch.Ges.Kreislaufforschg. 42, 1-13, 1976

HEIDENHAIN, R.: Untersuchungen über den Einfluß des nv. vagus auf die Herztätigkeit.
Pflüg. Archiv 27, 283-412, 1882

HELMCHEN, U.: Der relative Reninismus als ein pathogenetisches Prinzip der renalen Hypertonie.
Habilitationsschrift, Tübingen 1973

HEPP, A., M. HANSIS, R. GÖLCH und R. JACOB: Left ventricular isovolumetric pressure-volume relations, "diastolic tone", and contractility in the rat heart after physical training.
Basic Res. Cardiol. 69, 516-532, 1974

HILL, D.K.: Tension due to interaction between the sliding filaments in resting striated muscle. The effect of stimulation.
J. of Physiol. (Lond.) 199, 637-684, 1968

HOLUBARSCH, Ch.: Contracture type and fibrosis type of decreased myocardial distensibility. Different changes in elasticity of myocardium in hypoxia and hypertrophy.
Basic Res. Cardiol. 75, 244-252, 1980

HOLUBARSCH, Ch. und R. JACOB: Elastizitätsberechnungen am Modell des isolierten Ratten- und Katzenmyokards unter Kontrakturbedingungen an Hand von Ruhe-Dehnungskurven.
Basic Res. Cardiol. 73, 442-458, 1978

HOLUBARSCH, Ch. und R. JACOB: Die "Compliance" des Herzens. Med. Welt 31, 136-144, 1980

HUXLEY, H. and J. HANSON: Changes in the cross-striations of muscle during contraction and stretch and their structural interpretation. Nature 173, 973-979, 1954

JACOB, R.: Pathophysiologie der Herzmuskelinsuffizienz. In: Erkrankungen des Herzmuskels. 5. Tübinger Klin.-Radiol. Seminar (W. Frommhold, ed.), pp. 25-36. Stuttgart: Thieme 1976

JACOB, R., G. KISSLING, H. MOSER und W. SCHNIZER: Zur Existenz einerhypoxischen oder regulativen Tonusminderung des Herzens. Verh.Dtsch.Ges.Kreislaufforschg. 41, 267-271, 1975

JACOB, R., A. KÄMMEREIT, I. MEDUGORAC und M.F. WENDT-GALLITELLI: Myokardiale Leistungsfähigkeit, Maximalgeschwindigkeit der lastfreien Verkürzung (V_{max}) und "Kontraktilitätsindizes" beim hypertrophierten Herzen. Z. Kardiol. 65, 392-400, 1976

JACOB, R., G. EBRECHT, A. KÄMMEREIT, I: MEDUGORAC and M. F. WENDT-GALLITELLI: Myocardial function in different models of cardiac hypertrophy. An attempt at correlating mechanical, biochemical, and morphological paramters. Basic Res. Cardiol. 72, 160-167, 1977

KÄMMEREIT, A.: Die Mechanik des normalen und hypertrophierten Rattenmyokards. Dissertation Tübingen (1976)

KÄMMEREIT, A. and R. JACOB: Alterations in rat myocardial mechanics under Goldblatt hypertension and experimental aortic stenosis. Basic Res. Cardiol. 74, 389-405, 1979

KAUFMANN, R.L., H. HOMBURGER, H. WIRTH: Disorder in excitation-contraction coupling of cardiac muscle from cats with experimentally produced right ventricular hypertrophy.
Circulat. Res. 28, 346-357, 1971

KISSLING, G., T. GASSENMAIER, M.F. WENDT-GALLITELLI and R. JACOB: Pressure-volume relations, elastic modulus, and contractile behaviour of the hypertrophied left ventricle of rats with Goldblatt II hypertension.
Pflüg. Arch. 369, 213-221, 1977

KISSLING, G. and M.F. WENDT-GALLITELLI: Dynamics of the hypertrophied left ventricle in the rat. Effects of physical training and chronic pressure load.
Basic Res. Cardiol. 72, 178-183, 1977

KOALL, B. and C. PFEIFFER: Diastolisches Druck-Volumenverhalten des Froschventrikels unter überschießendem Kalziumangebot und Sauerstoffmangel.
Acta biol. med. germ. 26, 1167-1174, 1971

KRAYENBÜHL, H.P. und Å. SENNING: Die Kontraktilität des linken Ventrikels bei Aortenstenose vor und nach aortalem Klappenersatz.
Verh.Dtsch.Ges.Kreislaufforschg. 42, 114-119, 1976

LUISADA, A.A., and M. WEISS: Experiments on the diastolic and resting lengths of cardiac strips.
Amer. J. Physiol. 176, 123-129, 1954

MATSUBARA, I. and B.M. MILLMANN: X-ray diffraction patterns from mammalian heart muscle.
J. of Physiol. (Lond.) 230, 62P-63P, 1972

MEDUGORAC, I.: Different fractions in the normal and hypertrophied rat ventricular myocardium: An analysis of two models of hypertrophy.
Basic Res. Cardiol. 71, 608-623, 1976

MEERSON, F.Z.: Compensatory hyperfunction of the heart and cardiac insufficiency.
Circulat. Res. 10, 250-258, 1962

MEERSON, F.Z.: Insufficiency of hypertrophied heart.
Basic Res. Cardiol. 71, 343-354, 1976

MILLER, D.J.: Effect of extracellular divalent cations and EGTA on action potential duration in heart.
J. of Physiol. (Lond.), 263, 128-129 P, 1976

MILLER, D.J. and A. MÖRCHEN: On the effects of divalent cations and ethylene glycol-bis-(ß-aminoethyl ether) N,N,N',N'-tetraacetate on action potential duration in frog heart.
J. gen. Physiol. 71, 47-67, 1978

MIRSKY, I. and W.W. PARMLEY: Assessment of passive elastic stiffness for isolated heart muscle and the intact heart.
Circulat. Res. 33, 233-243, 1973

MOSER, H.: Die Elastizität des Myokards bei Hypoxie.
Dissertation Tübingen, 1977

MUIR, A.R.: A calcium-induced contracture of cardiac muscle cells.
J. of Anat. 102, 148-149, 1968

PETERSON, K.L., J. TSUJI, A. JOHNSON, J. DIDONNA, and M. LeWINTER: Diastolic left ventricular pressure-volume and stress-strain relations in patients with valvular aortic stenosis and left ventricular hypertrophy.
Circulation 58, 77-89, 1978

PODOLSKY, R.J.: The maximum sarcomere length for contraction of isolated myofibrils.
J. of Physiol. (Lond.) 170, 110-123, 1964

PORTZEHL, H., P.C. CALDWELL, and J.C. RÜEGG: The dependence of contraction and relaxation of muscle fibres from the crab maia squinado on the internal concentrations of calcium ions.
Biochim. Biophys. Acta 79, 581-591, 1964

RAMSEY, P.W. and S.F. STREET: Isometric length-tension diagram of isolated skeletal muscle fibers of the frog.
J. Cell. Comp. Physiol. 15, 11-34, 1940

REICHEL, H.: Die Beziehungen zwischen Länge und Spannung, Volumen und Druck des Herzmuskels.
Z. Biol. 99, 63-79, 1938

REICHEL, H.: Das plastische und elastische Element des Herzmuskels.
Pflüg. Archiv 257, 202-215, 1953

SANDLER, H. and H.T. DODGE: Left ventricular tension and stress in man.
Circulat. Res. 13, 91-104, 1963

SCHERLAG, B.J., H.J. BARTELSTONE, S.R. WYTE, and B.F. HOFFMANN: Variable diastolic ventricular compliance: A general property of mammalian cardiac muscle.
Nature 19, 1246-1248, 1966

SCHREIBER, S.S., M. ORATZ, and M.A. ROTHSCHILD: Protein synthesis in the overloaded mammalian heart.
Amer. J. Physiol. 211, 314-318, 1966

SJÖSTRAND, F.S. and E. ANDERSSON-CEDERGREEN: Ultrastructure of skeletal muscle myofilaments at various states of shortening.
J. Ultrastruct. Res. 1, 74, 1957

SONNENBLICK, E.H. and C.L. SKELTON: Reconsideration of the ultrastructural basis of cardiac length-tension relations.
Circulat. Res. 35, 517-526, 1974

SONNENBLICK, E.H., D. SPIRO and H.M. SPOTNITZ: Ultrastructural basis of Starling's law of the heart: Role of the sarcomere in determining ventricular size and stroke volume.
Amer. Heart J. 68, 336, 1964

SPÄH, F., A. FLECKENSTEIN and Y.K. BYON: The effects of catecholamines and Ca-antagonists on excitation-contraction coupling in partially depolarized heart muscle.
Pflüg. Archiv 377, R4, 1978

SPANN, J.F. jr., R.A. BUCCINO, E.H. SONNENBLICK, and E. BRAUNWALD: Contractile state of cardiac muscle obtained from cats with experimentally produced ventricular hypertrophy and heart failure.
Circulat. Res. 21, 341-354, 1967

SPIRO, D. and E.H. SONNENBLICK: Comparison of the ultrastructural basis of the contractile process in heart and skeletal muscle.
Circulat. Res. 15, II 14-36, 1964

STRAUER, B.E.: Das Hochdruckherz.
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York, 1979

WEBER, A. and S. WINICUR: The role of calcium in the superprecipitation of actomyosin.
J. of Biol. Chem. 236, 3198-3202, 1961

WENDT-GALLITELLI, M.F., G. EBRECHT and R. JACOB: Morphological alterations and their functional interpretation in the hypertrophied myocardium of Goldblatt hypertensive rats.
J. Molec. Cell. Cardiol. 11, 275-287, 1979

WEZLER, K.: Der diastolishe Herztonus.
Teil I: Z. Kreislaufforschg. 51, 651-666, 1962
Teil II: Z. Kreislaufforschg. 51, 838-865, 1962
Teil III: Z. Kreislaufforschg. 51, 907-931, 1962

WEZLER, K.: Wege und Irrwege in der Existenzfrage des kontraktilen diastolischen Herztonus.
Teil I: Z. Kreislaufforschg. 55, 465-477, 1966
Teil II: Z. Kreislaufforschg. 55, 594-613, 1966

WILSON, C. and F.B. BYRON: Renal changes in malignant hypertension. Experimental evidence.
Lancet I, 136-139, 1939

WINEGRAD, S.: Studies of cardiac muscle with a high permeability produced by treatment with ethylenediaminetetraacetic acid.
J. gen. Physiol. 58, 71-93, 1971

Für die Überlassung des Themas und die großzügige Förderung dieser Arbeit möchte ich

Herrn Prof. Dr. R. JACOB

herzlich danken.

Außerdem danke ich

Herrn Dr. Ch. HOLUBARSCH

für viele wertvolle Ratschläge.

LEBENSLAUF

Am 5.5.1955 wurde ich, Thomas Alfons Karl Holubarsch, als Sohn des Bauingenieurs Johannes Holubarsch und seiner Ehefrau Margarete, geb, Korsinek, in Tübingen geboren.

Von 1962 bis 1966 besuchte ich die Mörikeschule in Tübingen. 1966 trat ich in das Uhlandgymnasium in Tübingen ein, wo ich 1974 das Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1974/75 nahm ich an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen das Studium für Humanmedizin auf. Im Jahre 1976 legte ich die Ärztliche Vorprüfung ab. Das Praktische Jahr absolvierte ich im Katharinenhospital in Stuttgart. Am 20. Oktober 1980 bestand ich die Ärztliche Prüfung, und am 30. Oktober 1980 erhielt ich die Approbation als Arzt.

Von 1976 bis 1980 war ich Stipendiat des Cusanuswerkes, Bischöfliche Studienförderung.

Seit Februar 1981 bin ich als Wissenschaftlicher Angestellter am Physiologischen Institut, Lehrstuhl II, in Tübingen tätig.